



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR SENYAWA GLIKOSIDA DARI BIJI TUMBUHAN BINGKEK (*Entada phaseoloides* Merr)

TESIS



**JISMI MUBARRAK
0821207013**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2011**

**ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR SENYAWA GLIKOSIDA DARI
BIJI TUMBUHAN BINGKEK (*Entada phaseoloides* Merr)**

Oleh:

Jismi Mubarrak (0921207013)

Dibawah bimbingan

Prof. Dr. H. Sanusi Ibrahim MS dan Prof. Dr. H. Hazli Nurdin M.Sc

RINGKASAN

Masyarakat Indonesia sudah biasa menggunakan obat-obatan tradisional yang umumnya berasal dari tumbuhan untuk mencegah dari serangan penyakit atau mengobati penyakit. Aplikasi dari obat-obatan ini bisa dengan cara meminum ekstrak air dari tanaman tersebut atau meletakkan bagian yang sudah ditumbuk halus pada daerah di tubuh yang sakit. Kurangnya informasi ilmiah mengenai komponen-komponen kimia yang terdapat dalam tanaman untuk obat tradisional mengakibatkan nilai ekonomi dari tanaman-tanaman ini sangat rendah. Selain itu penggunaannya yang biasa menggunakan dosis sembarang bisa mengakibatkan efek yang tidak diinginkan

Pencarian sumber obat dari alam amat memungkinkan di Indonesia yang kaya akan keanekaragaman tumbuhan. Pemakaian bahan yang bersumber dari alam ini memiliki resiko efek samping yang lebih ringan serta tingkat keamanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan obat sintetis yang berasal dari bahan kimia murni. Beberapa dari tumbuhan tersebut mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi sediaan fitofarmaka dan sebagai sumber obat yang baru.

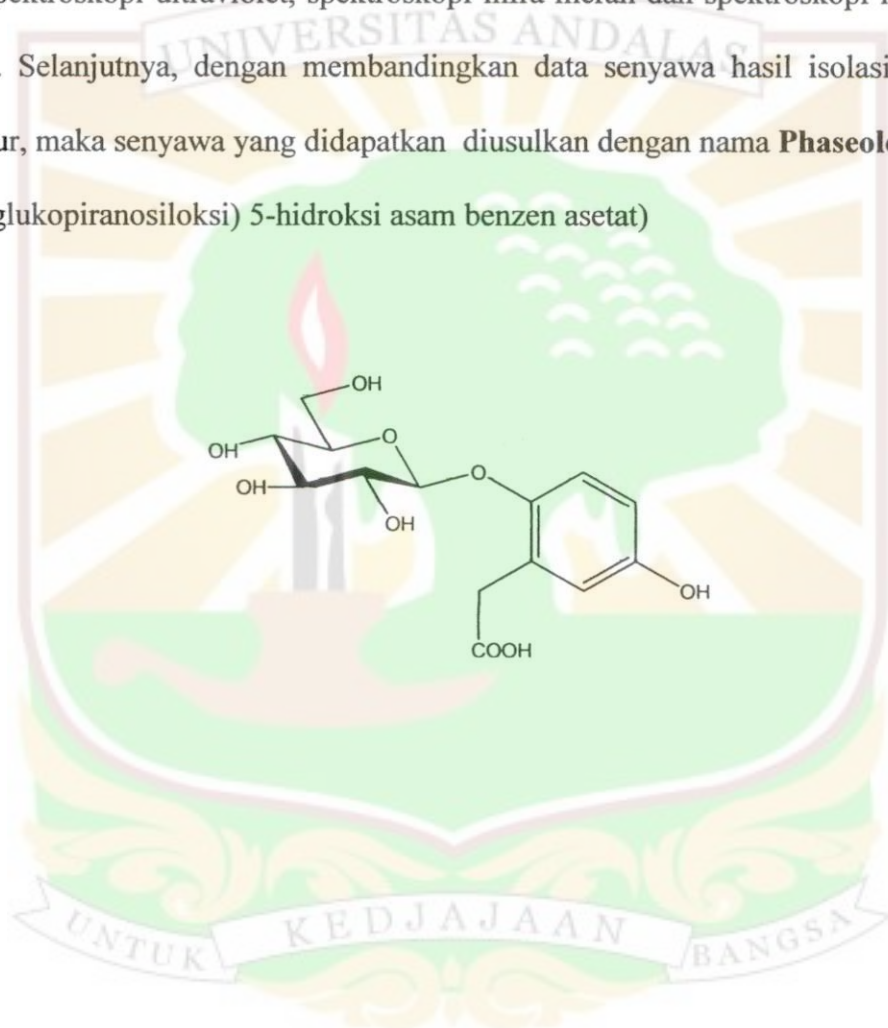
Tumbuhan bingkek merupakan salah satu tumbuhan merambat dari famili Fabaceae yang terdapat di Indonesia. Tumbuhan ini terdistribusi di beberapa daerah, seperti Jawa, Bali, dan Sumatera. Tumbuhan ini juga ditemui di beberapa negara seperti Philipina, Jepang, China hingga Afrika. Secara tradisional tumbuhan ini telah banyak digunakan sebagai tumbuhan obat antara lain untuk mengobati penyakit pityasis, sakit perut, pencuci rambut, memulihkan kondisi wanita yang baru melahirkan, obat rematik, burut, pembengkakan pada usus, bahkan juga digunakan sebagai racun ikan.

Banyaknya manfaat tumbuhan ini secara tradisional dimasyarakat sayangnya tidak sejalan dengan banyaknya penelitian yang dilakukan terhadap tumbuhan ini. Sedikitnya laporan hasil penelitian dan jurnal yang berkenaan dengan tumbuhan ini semakin membuktikan bahwa baru sebagian kecil dari kandungan tumbuhan ini yang pernah diteliti, oleh karena itu dirasa sangat diperlukan untuk meneliti kandungan kimia yang terdapat pada tumbuhan ini. penelitian yang dilakukan di Universitas Andalas tahun 2011 ini memfokuskan penelitian pada biji tumbuhan bingkek

Untuk mendapatkan senyawa glikosida dari tumbuhan bingkek dilakukan dengan merendam biji yang telah dihaluskan menggunakan metanol selama tiga hari, ekstrak yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Selanjutnya, ekstrak metanol yang berwarna coklat tua hasil rotary dilakukan fraksinasi dengan pelarut n-heksan dan kemudian diteruskan menggunakan pelarut etil asetat. Terbentuknya endapan berbentuk bubuk putih pada fraksi etil asetat

setelah disimpan selama seminggu menjadikan penelitian ini difokuskan pada fraksi etil asetat khususnya pemurnian bubuk putih tersebut.

Bubuk putih yang didapat selanjutnya dimurnikan dengan kromatografi kolom dan rekristalisasi. Senyawa murni hasil isolasi setelah dianalisa dengan kromatografi lapis tipis, dilakukan analisa lebih lanjut menggunakan kromatografi gas, spektroskopi ultraviolet, spektroskopi infra merah dan spektroskopi magnetik nuklir. Selanjutnya, dengan membandingkan data senyawa hasil isolasi dengan literatur, maka senyawa yang didapatkan diusulkan dengan nama **Phaseoloidin** (2-(β -D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat)



**ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR SENYAWA GLIKOSIDA DARI
BIJI TUMBUHAN BINGKEK (*Entada phaseoloides* Merr)**

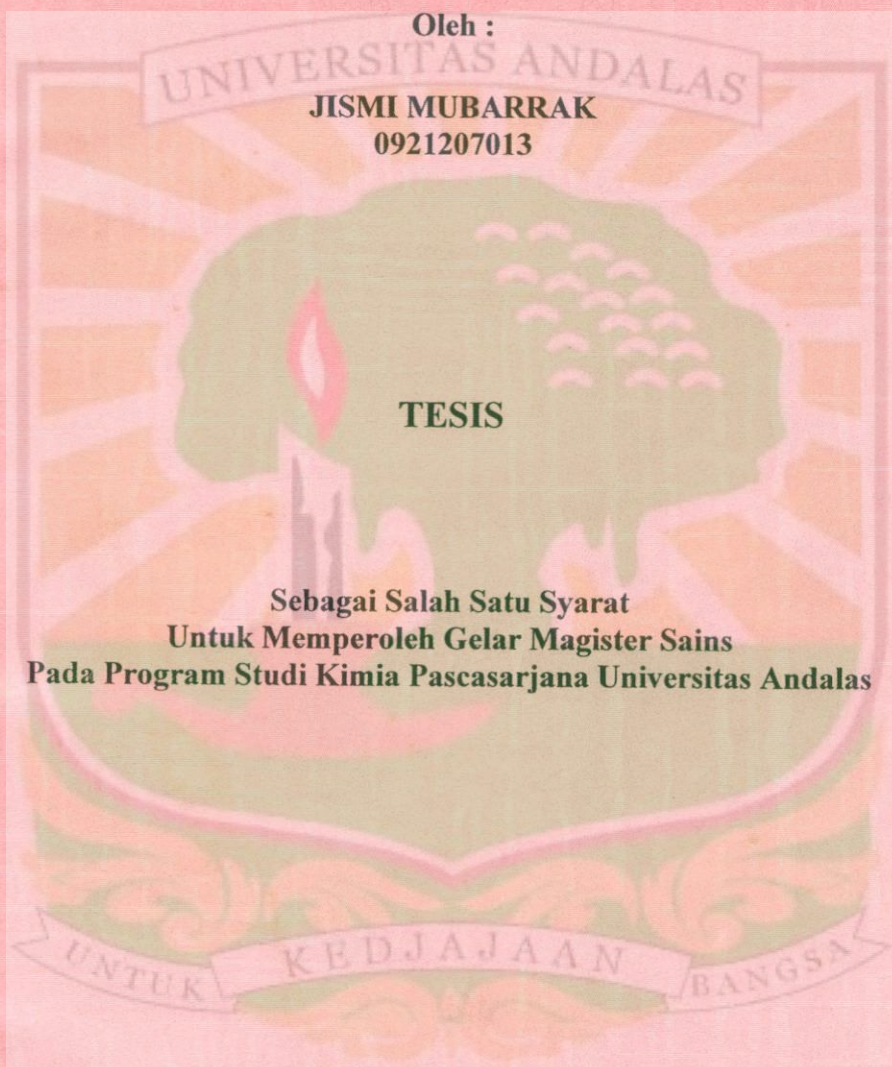
Oleh :

JISMI MUBARRAK

0921207013

TESIS

**Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Memperoleh Gelar Magister Sains
Pada Program Studi Kimia Pascasarjana Universitas Andalas**



**PROGRAM STUDI KIMIA
PASCASARJANA UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto

Sifat-sifat yang baik itu tidak dianugerahkan melainkan kepada orang-orang yang sabar dan tidak dianugerahkan melainkan kepada orang-orang yang mempunyai keuntungan yang besar. (Q.S. Fushshilat: 35)

Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar (Q.S. Al anfaal: 46)

Tidak ada balasan untuk kebaikan selain kebaikan pula. (Q.S. Ar-Rahman: 60)

Dia (Allah) menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik. (Q.S. Luqman: 10)

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupkan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan. (Q.S. Albaqarah: 164)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan selalu mengharapkan ridho Allah SWT kupersembahkan

hasil jerih payah dan perjuangan ini untuk:

UNIVERSITAS ANDALAS

Kedua orang tuaku yang tercinta

H. M. Nasir Mais (alm) dan Ibundaku tercinta Hj. Zaitun,

Kakakku Saa'datul Fikriyati, S.Pd,

Adindaku Arrafiqurrahman, SE, MM

dan sibungsu Rijalul Husni

*Saudari Eрма Suryani M.Si yang telah banyak membantuku dalam
penelitian dan penulisan tesis ini*

*Pemerintah Daerah Provinsi Riau, yang telah memberikan bantuan
berupa dana beasiswa kepada penulis*

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan H. M. Nasir Mais (Alm) dan Hj. Zaitun yang dilahirkan di Kota Tengah pada tanggal 08 Juni 1982 di Kecamatan Kepenuhan Kabupaten Rokan Hulu, Riau. Penulis menamatkan Pendidikan Dasar di SDN 001 Kota Tengah pada tahun 1995 dan pada tahun 1998 menamatkan pendidikan di MTs N Kota tengah selanjutnya tamatan SMUN 1. Kepenuhan pada tahun 2001

Pada tahun yang sama penulis melanjutkan studi di Universitas Riau tepatnya pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam. Setelah menamatkan S1 penulis sempat bekerja di Kantor Camat Kepenuhan selama satu tahun.

Sebelum melanjutkan studi di Universitas Andalas, penulis sempat melanjutkan pendidikan di negeri seberang (Malaysia), Namun karena kondisi ekonomi keluarga yang tidak memungkinkan akhirnya penulis harus mengurungkan niat menamatkan studi di negeri seberang tersebut. Sampai saat ini penulis masih terdaftar sebagai mahasiswa master (S₂) pada jurusan Bioteknologi Pemakanan Faculti Sains dan Teknologi Universiti Sains Islam Malaysia Negeri Sembilan.

Selama melanjutkan studi di Universitas Andalas penulis merasa mendapat banyak pengalaman baru. Penulis kemudian memilih pemusatan pada bidang kimia organik. Sejak tanggal 29 Juli 2011 Penulis dinyatakan berhasil menamatkan studi dan resmi menyandang gelas Magister Sains (MSi)

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini menyatakan bahwa tesis yang Saya tulis dengan judul “Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Glikosida dari Biji Tumbuhan Bingkek (*Entada phaseoloides* Merr)” adalah hasil karya Saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika dikemudian hari pernyataan yang Saya buat ini ternyata tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang Saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, 25 Juli 2011

yang membuat pernyataan,



Jismi Mubarrak M.Si

No.BP. 0921207013



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini yang berjudul **“Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Glikosida dari Biji Tumbuhan Bingkek (*Entada phaseoloides* Merr)”**. Selanjutnya shalawat beserta salam dikirimkan kepada tauladan umat, Nabi Muhammad SAW. Penulisan tesis ini bertujuan untuk memenuhi syarat guna memperoleh gelar Strata dua pada Program Studi Kimia Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada :

1. Prof. Dr. Sanusi Ibrahim, M.S. selaku Pembimbing Utama dalam penelitian dan penyusunan tesis ini.
2. Prof. Dr. Hazli Nurdin M.Sc. selaku Pembimbing Pendamping selama pelaksanaan penelitian, juga kepada bapak Dr. Mai Efendi, atas tunjuk ajar yang selalu diberikan selama penelitian di laboratorium.
3. Dr. Adlis Santoni selaku Ketua Program Studi Kimia Universitas Andalas Padang.
4. Prof. Dr. Novirman Djamarun, M.Sc. selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang.
5. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Kimia Program Pascasarjana Universitas Andalas.
6. Prof. Mamoru Koketsu, PhD atas bantuan pengukuran spektroskopi dan analisis struktur di GIFU University of Japan

7. Pemerintah Provinsi Riau yang telah memberikan Beasiswa Pendidikan Program Pascasarjana.
8. Kedua Orangtua tercinta, Kakakku, adekku, dan keluarga besar Suku Mais luhak kepenuhan
9. Rekan-rekan mahasiswa Strata-2 Kimia angkatan 2009: Novi M.Si, Anggi M.Si, dll
10. Rekan-rekan sesama bidang kimia organik: Endi Febrianto M.Si, Kiki Kurniawan M.Si dan Buk Ismarti yang sebentar lagi M.Si
11. Rekan-rekan mahasiswa penelitian di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Universitas Andalas: Abdi, Dedi, Erik, Hendra, Lokita, Sabet, Ii, Dini, Rina dll
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis sehingga selesainya tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tidak ada gading yang tak retak. Oleh karena itu Penulis tidak lupa mengharapkan kritik dan saran dalam perbaikan dan pengembangan riset ini ke depan. Harapan penulis semoga tesis dengan segala kekurangan dan kesederhanaan ini bermanfaat bagi rekan-rekan mahasiswa dan masyarakat yang membutuhkan.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Padang, 29 Juli 2011

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
RINGKASAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RIWAYAT HIDUP	ix
PERNYATAAN	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Tinjauan Umum Botani Tumbuhan Bingkek.....	5
2.1.1 Kegunaan Tumbuhan Bingkek	6
2.1.2 Kegunaan Tumbuhan Genus <i>Entada</i>	8
2.1.3 Kandungan Kimia Genus <i>Entada</i>	9
2.2. Glikosida	12
2.2.1. Pengertian glikosida	12

2.2.2. Biosintesis glikosida.....	13
2.2.3. Klasifikasi glikosida.....	14
2.2.4. Fungsi glikosida	15
2.3. Metoda Isolasi Senyawa Bahan Alam.....	15
2.3.1. Metoda ekstraksi	15
2.3.2. Metoda kromatografi.....	16
2.3.2.1. Kromatografi lapis tipis.....	17
2.3.2.2. Kromatografi kolom.....	18
2.3.2.3. Metoda kristalisasi.....	18
2.4. Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi	19
2.5. Metoda Karakterisasi.....	20
2.5.1. Spektroskopi ultraviolet.....	20
2.5.2. Spektroskopi inframerah.....	20
2.5.3. Spektroskopi massa.....	21
2.5.4. Spektroskopi resonansi magnetik inti (NMR)	22
2.5.5. Spektroskopi proton NMR (^1H -NMR)	22
2.5.6. Spektroskopi distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT)	23
2.5.7. Spektroskopi resonansi magnetik inti (HMBC).....	24
BAB III. METODE PENELITIAN	25
3.1. Alat dan Bahan	25
3.1.1. Alat yang digunakan.....	25
3.1.2. Bahan yang digunakan	25
3.1.3. Penyamplingan	25

3.1.4. Identifikasi tumbuhan.....	26
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.3. Identifikasi profil fitokimia	26
3.3.1. Pengujian alkaloid	26
3.3.2. Pengujian flavonoid.....	27
3.3.3. Pengujian triterpenoid dan steroid.....	27
3.3.4. Pengujian fenolik.....	27
3.3.5. Pengujian saponin	28
3.3.6. Pengujian kumarin.....	28
3.3.7. Pengujian glikosida	28
3.3.7.1. Persiapan sampel.....	28
3.3.7.2. Uji identifikasi Umum (Lieberman-Burchard)	29
3.3.7.3. Uji identifikasi glikosida dengan KLT	29
3.4. Ekstraksi	29
3.5. Pemisahan dengan kromatografi kolom.....	31
3.6. Pengujian hasil pemisahan dengan KLT	31
3.7. Rekristalisasi	32
3.8. Karakterisasi senyawa hasil isolasi	32
3.8.1. Pengukuran titik leleh.....	32
3.8.2. Perekaman spektrum ultraviolet.....	33
3.8.3. Karakterisasi menggunakan Gas kromatografi (GC)	33
3.8.4. Perekaman spektrum infra merah.....	33
3.8.5. Perekaman spektrum resonansi magnetik inti	34

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1. Profil Fitokimia Biji Tumbuhan bingkek	35
4.3. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Biji Tumbuhan Bingkek.....	36
4.4. Fraksinasi Ekstrak Biji Tumbuhan Bingkek	36
4.5. Pemurnian Fraksi Etil Asetat biji bingkek menggunakan kromatografi kolom	37
4.6. Analisis Gas kromatografi senyawa hasil isolasi	38
4.7. Elusidasi struktur senyawa hasil isolasi	38
4.7.1. Analisis spektrum Ultraviolet.....	38
4.7.2. Analisis spektrum Infra merah.....	39
4.7.3. Spektroskopi ^{13}C -NMR (^{13}C - Nuclear Magnethic Resonance)	40
4.7.4. Spektroskopi DEPT (Distortionles Enhancement by Polarization Transper)	42
4.7.5. Spektroskopi ^1H -NMR (^1H -Nuclear Magnetic Resonance) ..	43
4.7.5. Spektroskopi HMBC (^1H - ^{13}C Heteronuclear Multiple Bond Connectivity	45
V. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1. Kesimpulan.....	48
5.2. Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Pengujian profil fitokimia biji tumbuhan bingkek	35
Tabel 2. Spektra data ^{13}C -NMR senyawa hasil isolasi	41
Tabel 3. Nilai pergeseran kimia spektrum ^1H -NMR senyawa hasil isolasi.....	44
Tabel 4. Korelasi HMBC senyawa hasil isolasi)	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan, buah dan biji tumbuhan bingkek	5
Gambar 2. Fraksinasi biji tumbuhan bingkek	30
Gambar 3. Profil KLT senyawa hasil isolasi dengan berbagai variasi eluen setelah disemprotkan pereaksi Lieberman-Burchard (LB)	37
Gambar 4. Hasil pengujian kromatografi gas senyawa hasil isolasi	38
Gambar 5. Spektrum ultraviolet senyawa hasil isolasi	39
Gambar 6. Spektrum infra merah senyawa hasil isolasi	40
Gambar 7. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa hasil isolasi	40
Gambar 8. Spektrum DEPT senyawa hasil isolasi	42
Gambar 9. Spektum ^1H -NMR senyawa hasil isolasi	44
Gambar 10. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi	45
Gambar 11. Korelasi HMBC senyawa hasil isolasi	46



I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alam telah memberikan keanekaragaman organisme yang luar biasa, selama evolusi berlangsung beberapa milyar tahun yang lalu. Keanekaragaman organisme tersebut terdiri dari 250.000 spesies tumbuhan, 30 juta spesies serangga dan 1,5 juta spesies jamur. Masing-masing organisme ini bersama-sama dalam berbagai ekosistem, saling berinteraksi dengan berbagai cara sehingga dihasilkan senyawa metabolit sekunder. Mengingat jumlah organisme yang ada dan tidak terbatasnya interaksi yang mungkin terjadi, tidaklah mengherankan apabila metabolit sekunder yang diproduksi oleh berbagai organisme ini sangat beranekaragam jenisnya dan dalam jumlah yang besar (Achmad, 2006).

Masyarakat Indonesia sudah biasa menggunakan obat-obatan tradisional yang umumnya berasal dari tumbuhan untuk mencegah dari serangan penyakit atau mengobati penyakit. Aplikasi dari obat-obatan ini bisa dengan cara meminum ekstrak air dari tanaman tersebut atau meletakkan bagian yang sudah ditumbuk halus pada daerah di tubuh yang sakit. Kurangnya informasi ilmiah mengenai komponen-komponen kimia yang terdapat dalam tanaman untuk obat tradisional mengakibatkan nilai ekonomi dari tanaman-tanaman ini sangat rendah. Selain itu penggunaannya yang biasa menggunakan dosis sembarang bisa mengakibatkan efek yang tidak diinginkan (Utami dan Robara, 2008).

Pencarian sumber obat dari alam amat memungkinkan di Indonesia yang kaya akan keanekaragaman tumbuhan. Pemakaian bahan yang bersumber dari alam ini

memiliki resiko efek samping yang lebih ringan serta tingkat keamanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan obat sintetis yang berasal dari bahan kimia murni. Beberapa dari tumbuhan tersebut mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi sediaan fitofarmaka dan sebagai sumber obat yang baru.

Tumbuhan bingkek merupakan salah satu tumbuhan yang terdapat di Indonesia. Tumbuhan ini terdistribusi di beberapa daerah, seperti Bali, Jawa, Sumatera, juga terdapat di Filipina, Jepang, India hingga ke Afrika. Tumbuhan ini memiliki banyak khasiat. Secara tradisional, akarnya digunakan sebagai obat murus darah dan panas perut. Banyaknya busa yang dihasilkan bisa digunakan sebagai pencuci pakaian, pembersih rambut dan untuk mengobati penyakit pityriasis, yaitu kudis yang terdapat pada bagian yang berambut terutama kepala. Biji tumbuhan ini digunakan juga sebagai pencuci rambut, penyakit lambung dan sebagai obat untuk memulihkan kondisi wanita yang baru melahirkan. Bagi masyarakat Bali bijinya dijadikan sebagai makanan yakni dengan memanggang kulit buahnya hingga pecah, selanjutnya biji tersebut direndam dalam air mengalir selama 24 jam dan direbus kembali kemudian baru digunakan (Heyne, 1987).

Di negara Filipina, biji tumbuhan ini digunakan sebagai bahan pencuci rambut, obat rematik. Sedangkan bagi masyarakat India biji tumbuhan ini digunakan sebagai racun ikan (Barua, 1988). Masyarakat di bagian provinsi Yunan, China menggunakan tumbuhan ini sebagai obat sakit perut dan burut (Hui, 2010). Protein yang dikandung tumbuhan ini dilaporkan sebagai anti-HIV. (Dong, *et. al.*, 2009)

Penelusuran literatur terhadap tumbuhan bingkek diketahui bahwa baru sedikit penelitian yang pernah dilakukan terhadap tumbuhan ini, dan kandungan metabolit sekunder yang ditemukan baru terbatas pada beberapa senyawa saja. Untuk negara Indonesia penulis belum menemukan adanya penelitian atau pun literatur yang menunjukkan bahwa tumbuhan ini pernah diteliti di Indonesia.

1.2 Perumusan Masalah

Tumbuhan bingkek telah digunakan secara tradisional untuk pencegahan dan penyembuhan terhadap berbagai penyakit, namun sampai saat ini baru sedikit laporan tentang konstituen kimia yang terdapat pada tumbuhan ini. Untuk penelitian di Indonesia, sampai sejauh ini belum ada penelitian atau laporan yang menunjukkan bahwa tumbuhan ini pernah diteliti di Indonesia.

Dilain pihak penemuan senyawa metabolit sekunder, baik senyawa baru atau pun senyawa yang sudah dikenal dari famili Fabaceae juga merupakan suatu tantangan bagi peneliti Kimia Organik Bahan Alam untuk menginventarisasi kandungan kimia senyawa tersebut yang pada akhirnya bermanfaat untuk perkembangan ilmu dan dapat digunakan sebagai struktur model dalam usaha sintesis transformasi struktur menjadi senyawa yang bermanfaat bagi kehidupan umat manusia.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan struktur dari glikosida yang didapat dari biji tumbuhan bingkek.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini antara lain:

1. Dalam pengembangan ilmu, penelitian ini memberikan informasi ilmiah tentang senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam biji tumbuhan bingkek.
2. Dalam pembangunan, temuan penelitian berupa senyawa bioaktif dapat dikembangkan menjadi senyawa medisinal sehingga akan membantu pemerintah dalam peningkatan kesehatan masyarakat.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjaun Umum Botani Tumbuhan Bingkek

Tumbuhan bingkek dikenal juga dengan nama lainya yaitu: Cariyu (Sunda), Bendoh (Jawa), Pikat (Bali), akar belerang (Malaysia), Gogo (Philipina) dan Katengzi (China) adalah merupakan tumbuhan merambat dari famili Fabaceae. Batangnya berkulit tebal, memiring dan biasanya memutar. Kulit kayunya berwarna coklat gelap dan kasar. Diantara daunnya terdapat sulur yang biasanya juga memutar.

Tumbuhan ini memiliki bunga dengan ukuran 2 sampai 3 milimeter dan berwarna putih kekuningan, mempunyai buah seperti petai yang memiliki dan berisikan biji 4-15 butir berukuran 3-5 cm berwarna merah hingga coklat tua. Panjang buah dapat mencapai satu meter dan lebar buah 10 cm dengan bentuk melengkung dan memilki batas antar biji (Heyne, 1987) (Gambar 1).



Gambar 1. Tumbuhan, buah dan biji bingkek

Klasifikasi tumbuhan bingkek menurut ST.Tomas Bean (1985), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Subfamili	: Mimosoideae
Genus	: Entada
Spesies	: <i>Entada phaseoloides</i> Merr

Tumbuhan ini mempunyai 7 spesies dan dijumpai tersebar secara luas di berapa daerah didunia, yaitu: *Entada abissynica*, *Entada Africana*, *Entada chrysostachys*, *Entada gigas*, *Entada phaseoloides*, *Entada polystachya*, dan *Entada rhedii*.

2.1.1 Kegunaan Tumbuhan Bingkek

Penelusuran literatur terhadap tumbuhan bingkek diketahui bahwa baru sedikit penelitian yang pernah dilakukan terhadap tumbuhan ini. Kandungan metabolit sekunder yang ditemukan baru terbatas pada beberapa senyawa saja. Untuk negara Indonesia penulis belum menemukan adanya penelitian atau pun literatur yang menunjukkan bahwa tumbuhan ini pernah diteliti di Indonesia

Luasnya penyebaran tumbuhan bingkek membuat tumbuhan ini secara tradisional banyak digunakan. Di daerah China misalnya tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat diprovinsi bagian Yunan sebagai obat sakit perut dan burut (Hui, 2010). Bagi masyarkat Philipina tumbuhan ini digunakan sebagai sampo dan obat

rematik. Sedangkan masyarakat India menggunakan biji tumbuhan ini sebagai racun ikan (Barua, 1987).

Di Indonesia, khususnya di daerah Bali biji tumbuhan ini dijadikan sebagai bahan makanan, prosesnya dilakukan dengan cara memanggang kulit buahnya hingga pecah. Selanjutnya biji tersebut direndam dalam air mengalir selama 24 jam dan direbus kembali kemudian baru digunakan sebagai bahan makanan. Secara tradisional di Sumatera, akar tumbuhan ini digunakan pula sebagai obat murus darah, dan panas perut. Banyaknya busa yang dihasilkan oleh batang dan akar tumbuhan ini, membuatnya bisa digunakan sebagai pencuci pakaian, pembersih rambut dan untuk mengobati penyakit pityriasis, yaitu kudis yang terdapat pada bagian yang berambut, terutama kepala. Biji tumbuhan ini digunakan juga sebagai pencuci rambut dan penyakit lambung. Di daerah Sunda, biji tumbuhan ini digunakan sebagai obat untuk memulihkan kondisi wanita yang baru melahirkan (Heyne, 1987).

Penelitian yang pernah melaporkan tentang tanaman atau genus tumbuhan ini diantaranya adalah Barua, (1988) melakukan penelitian terhadap biji tumbuhan ini di Calcuta, India dan menemukan adanya 2-(β -D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Ikegami, (1987) menemukan adanya senyawa entadamid A dan Entadamid B.

Dengan pertimbangan di atas, dapat diketahui bahwa masih amat sedikit penelitian yang dilakukan terhadap tumbuhan ini, Khususnya pada biji. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengungkapkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan tersebut, mengingat kegunaan tumbuhan ini amat banyak di masyarakat.

2. 1.2. Kegunaan Tumbuhan Genus *Entada*

Genus *Entada* tersebar luas di beberapa daerah didunia, dan masing-masing dilaporkan mengandung senyawa aktif dan memiliki kegunaan tertentu. *Entada rheedii* misalnya, banyak terdapat di daerah Afrika. Oleh masyarakat Kamerun digunakan sebagai obat sakit perut. Penelitian yang dilakukan oleh Nzoa. *et al.*, (2010) melaporkan bahwa tumbuhan *Entada rheedii* ini mempunyai biokativitas sebagai antiproliferatif dan antioksidan.

Berbeda dengan *Entada rheedii*, menurut Freiburghaus, (1998) berdasarkan penelitian yang dilakukannya, Freiburghaus melaporkan bahwa ekstrak akar tumbuhan *Entada abyssinica* yang difraksinasi dengan diklorometan setelah dilakukan pengujian terhadap *Trypanasoma brucei* memberikan hasil yang positif. Bagi masyarkat Uganda secara tradisional tumbuhan ini digunakan untuk mengobati penyakit tidur, yaitu penyakit yang diakibatkan oleh *Tripanasoma brucei*. Penelitian yang dilakukan oleh Olajide, *et al.*, (2001) dari Universitas Ibadan Nigeria ini melaporkan pula bahwa ekstrak metanol tumbuhan ini mempunyai bioaktivitas sebagai anti inflamentori.

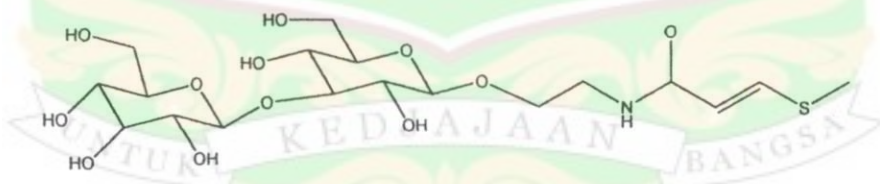
Entada africana merupakan tumbuhan yang banyak terdapat di Mali. Tumbuhan ini oleh masyarakat setempat digunakan sebagai obat tradisional yaitu anti racun, sebagai obat batuk, melawan penyakit bronkhitis, dan mencegah infeksi. Akar tumbuhannya digunakan sebagai obat antispilis dan antiseptik sedangkan daunnya oleh masyarakat digunakan juga sebagai antiseptik, obat rematik, obat penurun panas, dan juga digunakan sebagai pencegah infeksi kulit.

Penelitian yang dilakukan oleh Diallo, *et al.*, (2001) menunjukkan bahwa tumbuhan *Entada africana* memiliki efek sebagai anti bakteri, antivirus dan anti hepatoksid. Cioffi, *et al.*, (2006) melaporkan pula bahwa senyawa triterpen saponin yang diisolasinya dari tumbuhan *Entada africana* mempunyai efek sebagai antiproliferatif.

Entada pursathea merupakan salah satu tumbuhan yang banyak terdapat di India. Penelitian yang dilakukan oleh Rao, dan Priya, (2008) melaporkan bahwa tumbuhan ini secara tradisional oleh masyarakat India digunakan untuk mengobati beberapa jenis penyakit, diantaranya: biji tumbuhan ini digunakan sebagai obat alexiterik, narkotik, tonik, emetik, anthelmintik, antipiretik, febrifuge, and hemorhoidal. Daunnya digunakan sebagai obat penyakit kulit, akarnya digunakan sebagai obat anti-epilepsi.

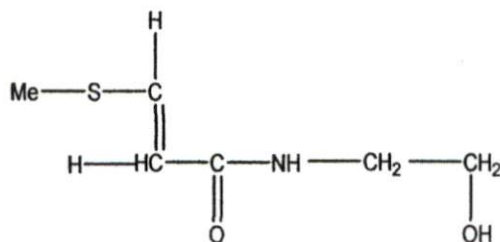
2.1.3. Kandungan Kimia Genus *Entada*

Penelitian terhadap biji tumbuhan bingkek menyebutkan bahwa tanaman ini mengandung senyawa entadamid A- β -D-glukopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glukopiranosid. Strukturnya seperti digambarkan dibawah ini. Hui, *et.al.*, (2010).

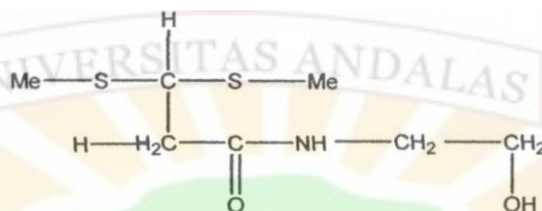


Entadamid A- β -D-glukopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glukopiranosid.

Ikegami, (1987) Melakukan penelitian terhadap biji tumbuhan bingkek menemukan suatu senyawa yang diberinya nama entadamid A dan entadamid B. Strukturnya seperti yang digambarkan dibawah ini.

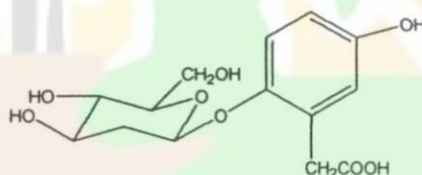


Entadamid A



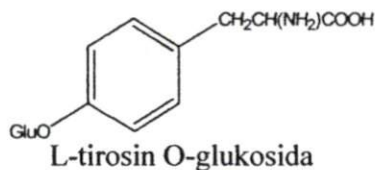
Entadamid B

Pada tahun (1988), Barua, juga pernah melaporkan bahwa beliau menemukan senyawa phaseoloidin atau 2-(β-D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat yang didapat dari biji bingkek.

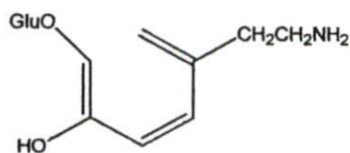


2-(β-D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat

Larsen, *et al.*, (1973) melakukan penelitian pada biji tumbuhan dengan genus yang sama yaitu *Entada pursaetha*, dan mendapatkan senyawa L-tirosin O-glukosida dan dopamine-3-O-Glukosida

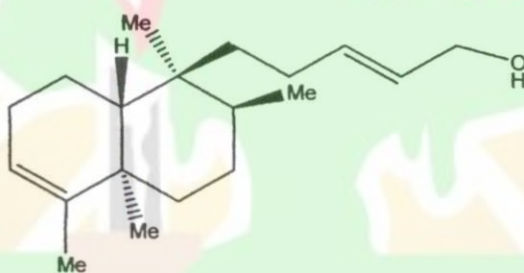


L-tirosin O-glukosida



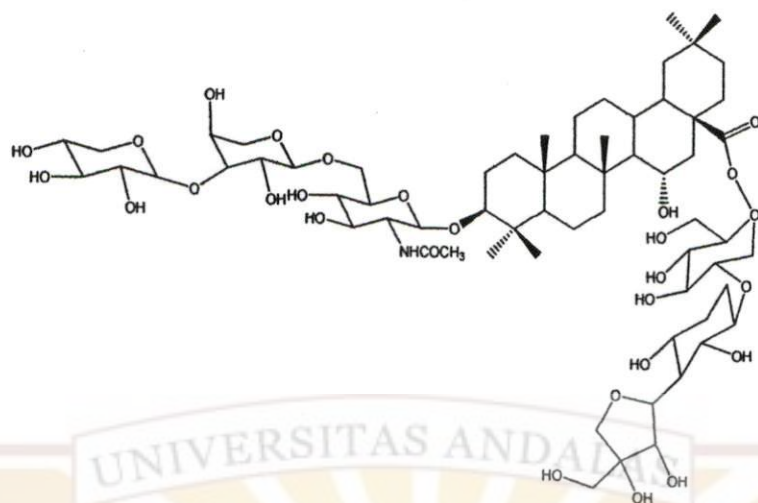
Dopamine-3-O-Glukosida

Olajide dan Alada, (1998) dari Universitas Ibadan Nigeria melakukan penelitian terhadap *Entada abissinica* dan melaporkan bahwa ekstrak metanol tumbuhan ini mempunyai khasiat sebagai anti-inflamatori. Freiburghaus, *et al.*, (1998) melakukan penelitian terhadap tumbuhan *Entada abissinica* mendapatkan senyawa kolavenol dan mempunyai biokativitas sebagai anti-*Trypanosoma brucei rhodesiense*. Strukturnya seperti dibawah ini.

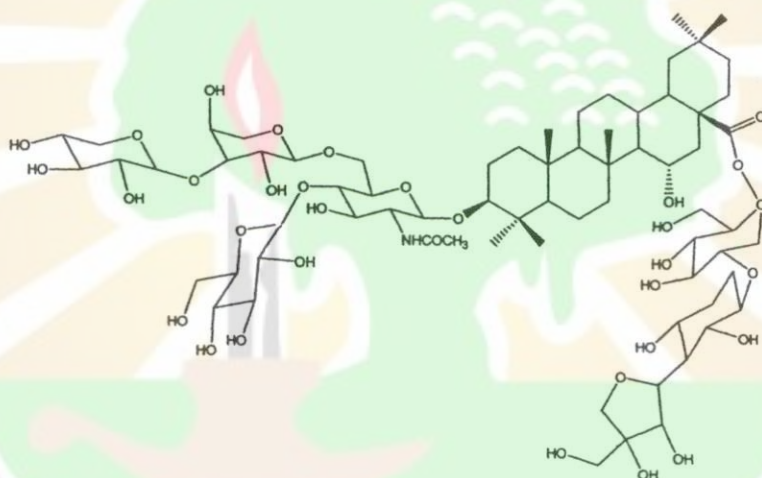


kolavenol

Nzoa, *et al.*, (2010) melakukan penelitian pada biji tumbuhan *Entada rhedii* mendapatkan senyawa reediinosid A dan B. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa senyawa yang ditemukan ini mempunyai bioaktivitas sebagai antioksidan dan antiproliferasi.



Reediinosid A



Rediinosid B

2.2. Glikosida

2.2.1 Pengertian Glikosida

Glikosida adalah senyawa yang terdiri atas gabungan dua bagian senyawa, yaitu gula dan bukan gula. Keduanya dihubungkan oleh suatu bentuk ikatan berupa jembatan oksigen (O – glikosida, *dioscin*), jembatan nitrogen (N-glikosida, *adenosine*), jembatan sulfur (S-glikosida, *sinigrin*), maupun jembatan karbon (C-

glikosida, *barbaloin*). Bagian gula biasa disebut glikon sedangkan bagian bukan gula disebut sebagai aglikon atau genin. Apabila glikon dan aglikon saling terikat maka senyawa ini disebut sebagai glikosida. (Boeckler, 2011)

2.2.2 Biosintesis glikosida

Apabila bagian aglikon dari suatu glikosida merupakan gula, maka glikosida ini disebut hollosida, sedang kalau bukan gula disebut heterosida. Pembicaraan tentang biosintesa dari heterosida umumnya terdiri dari dua bagian yang penting, yang pertama adalah reaksi umum bagaimana bagian gula terikat dengan bagian aglikon. Diperkirakan reaksi transfer ini sama pada semua sistem biologik. Ini kemudian dilanjutkan dengan pembicaraan secara mendetail tentang jalannya reaksi biosintesa untuk berbagai jenis aglikon yang akan menyusun glikosida.

Hasil-hasil penyelidikan telah menunjukkan bahwa jalan reaksi utama dari pembentukan glikosida meliputi pemindahan (transfer) gugusan uridilil dari uridin trifosfat kesuatu gula-1-fosfat. Enzim-enzim yang bertindak sebagai katalisator pada reaksi ini adalah uridilil transferase (UTP) dan telah dapat diisolasi dari binatang, tanaman dan mikroba. Sedang gula fosfatnya dapat berupa pentosa, heksosa dan turunan gula lainnya. Pada tingkat reaksi berikutnya enzim yang digunakan adalah glikolisis transferase (UDP), dimana terjadi pemindahan (transfer) gula dari uridin difosfat kepada akseptor tertentu (aglikon) dan membentuk glikosida



Apabila glikosida telah terbentuk, maka suatu enzim lain akan bekerja untuk memindahkan gula lain kepada bagian monosakarida sehingga terbentuk bagian disakarida. Enzim serupa terdapat pula dalam tanaman yang mengandung glikosida lainnya yang dapat membentuk bagian di-, tri- dan tetrasakarida dari glikosidanya dengan reaksi yang sama.

2.2.3. Klasifikasi Glikosida

Klasifikasi glikosida adalah sebagai berikut:

1. Glikosida saponin, yaitu glikosida yang aglikonya berupa sapogenin. Gliokosa saponin bisa berupa saponin steroid maupun saponin triterpenoid.
2. Glikosa steroid, yaitu glikosa yang aglikonnya berupa steroid. Disebut juga glikosa jantung karena memiliki daya kerja yang kuat dan spesifik terhadap otot jantung.
3. Glikosa antrakuinon, yaitu aglikonnya berupa antrakuinon. Glikosa ini mudah terhidrolisis.
4. Glikosida sianopora, merupakan glikosa yang ketika dihidrolisis terurai menghasilkan asam sianida (HCN).
5. Glikosida isotiosianat, glikosida ini banyak terdapat pada famili crucifera. Aglikonnya berupa isotiosianat.
6. Glikosida flavonol, glikosida ini merupakan senyawa yang sangat luas penyebarannya didalam tanaman. Aglikonnya berupa senyawa flavonoid.
7. Glikosida Alkohol, yaitu glikosida yang aglikonnya selalu memilki gugus hidroksi.

8. Glikosa aldehyd, aglikonnya berupa suatu aldehyd. Contoh senyawa ini adalah salinigrin yang terdapat pada tumbuhan *Salix discolor*.
9. Glikosa lakton, yaitu glikosida yang mengikat senyawa kumarin (lakton). Glikosida ini sangat jarang ditemukan.
10. Glikosida fenol, yaitu aglikonnya berupa senyawa fenol. Contoh dari senyawa ini adalah hesperidin yang terdapat pada buah jeruk. (Najib, 2007)

2.2.4. Fungsi Glikosida

Secara umum, glikosida digunakan sebagai bahan pengobatan. Diantaranya adalah obat jantung, pencahar, pengiritasi lokal, analgesik dan penurun tegangan permukaan. Glikosida digitalis misalnya berkhasiat sebagai pencahar senna, glikosida dari gaulteria dapat menghasilkan metil salisilat yaitu sebagai analgesik. (Pridham, *et.al.*, 2000).

2.3. Metoda Isolasi Senyawa Bahan Alam

2.3.1. Metoda ekstraksi

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk sampel kering. Dari sampel kering dibuat serbuk dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar semakin halus serbuk sampel maka proses ekstraksi semakin efektif karena luas permukaannya (Parameter Standar Umum Ekstak Tumbuhan Obat, 2000).

Ekstraksi merupakan salah satu metoda penarikan yang digunakan untuk menarik senyawa organik yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi, pelarut tersebut harus dapat melarutkan

senyawa organik yang terkandung dalam tumbuhan, mudah menguap (titik didihnya rendah) dan tidak terjadi reaksi antara pelarut yang digunakan dengan hasil isolasi yang akan dimurnikan. Sampel kering secara umum diekstraksi dengan berbagai pelarut dari kepolaran rendah sampai kepolaran tinggi (Parameter Standar Umum Ekstak Tumbuhan Obat, 2000).

Metoda ekstraksi banyak jenisnya, tergantung pada tekstur, kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi. Prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering adalah dengan ekstraksi berkesinambungan menggunakan sederetan pelarut yang berbeda-beda. Proses ekstraksi dilakukan berulang-ulang dengan pelarut yang berbeda atau resirkulasi cairan pelarut dan prosesnya tersusun berturut beberapa kali. Pelarut yang digunakan dimulai dengan pelarut yang non-polar kemudian dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar (Parameter Standar Umum Ekstak Tumbuhan Obat, 2000).

2.3.2. Metoda kromatografi

Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang paling populer untuk pemurnian senyawa. Hampir setiap campuran kimia dapat dipisahkan dengan metoda ini, mulai dari bobot yang paling besar sampai bobot yang paling kecil. Pemisahan secara kromatografi berdasarkan beberapa kecenderungan sifat fisiknya yaitu ; 1. kecenderungan molekul untuk larut dalam cairan (partisi). 2. kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus (adsorpsi, penyerapan) dan 3. kecenderungan molekul lewat interpori (porositas) (Ahuja, 2003).

Metoda kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan secara fisika yang menggunakan dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Pemisahan ini terjadi karena adanya perbedaan migrasi yang disebabkan oleh beda koefisien distribusi dari masing-masing komponen. Salah satunya merupakan lapisan stasioner (fasa diam) dengan permukaan yang luas dan fasa yang lain berupa zat alir (fluid) yang mengalir lambat menembus sepanjang lapisan stasioner (Wixom dan Gehrke, 2010).

2.3.2.1. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) fase diamnya berupa lapisan dan fase geraknya mengalir karena kerja kapiler. Dalam kajian analisis kualitatif, kromatografi lapis tipis sangat umum digunakan dalam teknik analisis kimia, antara lain yaitu:

1. Untuk identifikasi suatu senyawa.
2. Untuk mengetahui berapa banyak jenis senyawa dalam suatu campuran (kemurnian).
3. Untuk mengetahui pelarut/perbandingan pelarut yang cocok untuk pemisahan pada kromatografi kolom.
4. Untuk memonitor pemisahan pada kromatografi kolom.
5. Untuk uji kemurnian

Visualisasi untuk senyawa yang tidak berwarna harus dideteksi dengan cara penyinaran lampu UV, dengan memasukkan ke dalam uap iodin, atau dengan pereaksi penampak noda seperti Dregendorff. Noda yang didapat ditandai dengan pensil untuk menentukan harga R_f yang berkisar 0-1. Harga R_f dapat dihitung

dengan membandingkan jarak yang ditempuh komponen dengan jarak yang ditempuh eluen (Ahuja, 2003).

2.3.2.2. Kromatografi kolom

Kromatografi kolom merupakan salah satu metoda kromatografi dengan fasa gerak cair dan fasa diam padat. Penggunaan fasa gerak (eluen) disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dipisahkan.

Fasa diam ditempatkan dalam tabung kaca berbentuk silinder, pada bagian bawah tertutup dengan katup atau kran dan fasa gerak dibiarkan mengalir ke bawah melaluinya karena gaya berat. Pada kondisi yang dipilih dengan baik, eluen yang merupakan komponen campuran, turun berupa pita dengan laju yang berlainan dan dengan demikian dipisahkan. Eluen biasanya dipisahkan dengan cara membiarkannya mengalir keluar dari kolom dan mengumpulkannya sebagai fraksi, seringkali dengan memakai pengumpul fraksi mekanis (Ahuja, 2003).

Untuk mengoptimalkan hasil pemisahan dapat pula menggunakan kolom yang dilengkapi dengan aliran tekanan udara yang berasal dari aerator. Dalam hal ini kolom sedikit diberi modifikasi yakni, ujung kolom dibagian atas diberi penutup dan lubang saluran udara melalui pipa atau selang aerator. Tekanan udara akan mempercepat proses elusi dalam kolom. Tekanan ini lebih menguntungkan karena memisahkan dengan baik, tidak memakan waktu yang cukup lama, elusi berjalan dengan baik jika dibandingkan dengan tanpa menggunakan tekanan udara (Wixom dan Gehrke, 2010).

2.3.2.3. Metoda rekristalisasi

Rekristalisasi adalah metode yang paling penting untuk memurnikan dan memisahkan senyawa padat. Untuk itu suatu pelarut yang sesuai dijenuhkan dengan jalan pemanasan dengan senyawa padat yang akan dimurnikan, bagian yang tidak larut disaring panas kemudian larutan didinginkan pelan-pelan, substansi biasanya dalam bentuk murni akan mengkristal.

Rekristalisasi dapat pula digunakan pelarut campuran. Zat padat akan terlebih dahulu dilarutkan dalam sedikit pelarut yang paling mudah melarutkannya lalu ditambahkan pelarut yang kedua yang tidak melarutkannya sampai jenuh. Pelarut yang digunakan untuk rekristalisasi adalah yang tidak melarutkan pada suhu kamar, tetapi larut bila dipanaskan.

2.4. Uji Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi

Salah satu pengujian kemurnian senyawa hasil isolasi yaitu berdasarkan titik leleh. Titik leleh merupakan temperatur keadaan suatu kristal mulai meleleh sampai kristal meleleh seluruhnya. Menurut Sharp *et al.*, (1989) kegunaan penentuan titik leleh suatu senyawa adalah penentuan kemurnian. Pada penentuan titik leleh suatu senyawa, bila harga yang diperoleh memiliki selisih angka yang lebih kecil dari atau sama dengan 2°C , maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki kemurniaan yang baik, tetapi jika selisihnya lebih besar dari 2°C , maka senyawa tersebut belum murni. Selain itu juga bisa dengan KLT yang bila memberikan noda dengan berbagai eluen ini tanda sudah murni.

2.5. Metoda Karakterisasi

2.5.1. Spektroskopi ultraviolet

Spektrum ultraviolet dan sinar tampak (UV-Vis) dari suatu senyawa organik berhubungan dengan transisi elektron dari satu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Kegunaan lainnya adalah untuk mengetahui jumlah ikatan rangkap yang terdapat didalam suatu molekul (Pavia, 2007).

Spektroskopi Uv-vis mengukur probabilitas dan energi eksitasi suatu molekul dari keadaan elektronik dasar kesuatu keadaan eksitasi. Spektrum absorpsi UV-vis suatu senyawa dapat memperlihatkan banyaknya pita serapan, dengan λ_{maks} setiap pita berhubungan dengan energi yang diperlukan untuk pembentukan keadaan tereksitasi (Kristanti, *et al.*, 2008).

2.5.2. Spektroskopi inframerah

Spektrofotometri inframerah lebih banyak digunakan untuk identifikasi suatu senyawa melalui gugus fungsinya. Spektroskopi IR didasarkan pada absorpsi radiasi elektromagnetik suatu zat pada daerah panjang gelombang 2- 15 mikron atau bilangan gelombang $4000 - 650 \text{ cm}^{-1}$. Molekul yang menyerab radiasi elektromagnetik pada daerah ini akan mengalami vibrasi ulur (stretching vibration) dan vibrasi tekuk (bending vibration). Untuk keperluan elusidasi struktur maka daerah dengan bilangan gelombang $1400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ yang berada dibagian kiri spektrum IR, merupakan daerah yang khusus berguna untuk identifikasi gugus-gugus fungsional, yang merupakan absorpsi dari vibrasi ulur. Selanjutnya daerah yang berada disebelah kanan bilangan gelombang 1400 cm^{-1} sering kali sangat rumit karena pada daerah ini terjadi absorpsi dari vibrasi ulur

dan vibrasi tekuk, namun setiap senyawa organik memiliki absorpsi yang karakteristik pada daerah ini (Stuart, 2004).

Oleh karena itu bagian spektrum ini disebut daerah sidik jari (fingerprint region), meskipun bagian kiri suatu spektrum nampaknya sama untuk senyawa-senyawa yang mirip, daerah sidikjari haruslah cocok agar dapat disimpulkan bahwa kedua senyawa tersebut sama.

2.5.3. Spektroskopi massa

Spektrofotometer massa adalah suatu metode identifikasi struktur molekul senyawa berdasarkan massa. Spektrum massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Khopkar, 2003).

Suatu titik permulaan yang ideal dalam analisis struktur organik, penggunaan data spektroskopi massa adalah untuk menentukan massa suatu molekul, memperoleh rumus molekul, dan mengetahui informasi dari struktur dengan melihat pola fragmentasinya. Hal ini sangat mungkin karena spektrofotometer massa memberikan seluruh isotop yang hadir pada suatu senyawa untuk dapat diteliti secara bersamaan. Spektrofotometer massa memulai analisis dengan cara mengionisasi suatu sampel dan ion yang dihasilkan diceraikan, kemudian diplot sebagai perbandingan massa terhadap muatan (m/z) versus kelimpahan relatif (relative abundance, %). Muatan ion-ion tunggal atau ganda yang bermuatan positif maupun negatif dapat diamati (Pavia, 2007).

Intensitas dari puncak ion molekul tergantung pada kestabilan ion yang terbentuk yang dipengaruhi oleh struktur molekul. Puncak yang paling tinggi dari

spektrum massa disebut *base peak*. Setiap komponen memberikan rangkaian fragmentasi yang spesifik yang biasa disebut pola fragmentasi dan berbentuk deretan garis (Khopkar, 2003). Spektroskopi senyawa terpenoid dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

2.5.4. Spektroskopi resonansi magnetik inti (NMR)

Spektroskopi NMR merupakan teknik yang sangat populer di dalam menentukan struktur senyawa organik. Spektroskopi NMR berhubungan dengan sifat magnetik inti. Penentuan senyawa dengan menggunakan NMR akan diperoleh gambaran perbedaan sifat magnet dari berbagai inti yang ada untuk menduga letak inti tersebut dalam molekul (Pavia, 2007).

Spektrum normal NMR adalah pengumpulan dari satu atau lebih puncak resonansi pada frekuensi berbeda. *Chemical shift* atau pergeseran kimia menunjukkan posisi frekuensi resonansi yang diamati pada inti spesifik lingkungan struktur tunggal (Crews, 1998). Ada dua jenis spektroskopi NMR yaitu ^1H NMR dan ^{13}C NMR. Salah satu bagian informasi yang penting pada suatu spektrum ^1H NMR adalah pergeseran kimia dari berbagai jenis proton di dalam sampel. ^{13}C NMR juga memberikan informasi struktur berdasarkan pergeseran kimia dari bermacam-macam karbon pada suatu senyawa (Mohrig *et al.*, 2003).

2.5.5. Spektroskopi proton NMR (^1H -NMR)

Spektroskopi ^1H -NMR cukup banyak digunakan oleh kimiawan organik. Spektroskopi ini didasarkan pada kenyataan bahwa setiap kelompok proton (H) dalam molekul organik akan beresonansi pada frekuensi yang tidak identik atau

beresonansi pada frekuensi spesifik. Hal ini disebabkan kelompok proton suatu molekul organik dikelilingi elektron yang berbeda (lingkungan elektroniknya berbeda). Makin besar kerapatan elektron yang mengelilingi inti maka makin besar pula medan magnet yang digunakan. Karena setiap atom H (proton) suatu molekul organik mempunyai lingkungan elektronik (kimia) yang berbeda maka akan menyebabkan frekuensi resonansi yang berbeda (Pavia, 2007).

Pergeseran kimia, dilambangkan dengan δ , menyatakan seberapa jauh (satuan ppm) proton tersebut digeser dari proton standar Tetrametilsilana (TMS) ($\delta = 0$ ppm), terhadap frekuensi spektrometer yang digunakan. (Pavia, 2007).

2.5.6. Spektroskopi DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*)

Percobaan DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) dapat membedakan signal karbon metil, metilen, metin dan karbon quarterner. Karbon metil dan metin menunjuk ke atas, karbon metilen ke bawah dan karbon quarterner hilang.

Spektroskopi NMR DEPT memiliki 3 sub-spektrum yang berbeda: 45 MHz, 90 MHz dan 135 MHz. Pada DEPT-45 akan menunjukkan seluruh puncak atom karbon yang mengemban proton (hidrogen). Pada DEPT-90, puncak yang ditunjukkan hanya untuk atom karbon gugus metin (CH). Sementara pada DEPT-135 karbon metin dan metil memberikan puncak keatas (positive peaks), sedangkan karbon metilen puncaknya mengarah kebawah (Pavia *et al*, 2007).

2.5.7 Spektroskopi HMBC (^1H - ^{13}C *Heteronuclear Multiple Bond Connectivity*)

HMBC merupakan salah satu jenis NMR dua dimensi yang digunakan untuk pembuktian struktur molekul (struktur dua dimensi) senyawa. Melalui data HMBC ini dapat diketahui kopling dengan jarak dua atau tiga ikatan sehingga secara tidak langsung dapat digunakan untuk mengetahui karbon-karbon tetangga yang memiliki jarak dua sampai tiga ikatan dengan suatu proton tertentu (Mitchell, 2007).



III. METODE PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah sebagai berikut : spektrofotometer UV-Visible merk Hitachi U-2001, spektrofotometer IR merk Shimadzu type IR Prestige-21, Spektrofotometer NMR merk JEOL type JNM-ECA 600 MHz (^{13}C -NMR, ^1H -NMR, DEPT dan HMBC), lampu ultraviolet 365 dan 254 nm, seperangkat alat destilasi, rotary evaporator, kolom kromatografi, oven vakum, hot plate, fisher john melting point apparatus, dan peralatan lainnya yang sesuai prosedur kerja.

3.1.2. Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut teknis untuk isolasi yaitu : metanol, n-heksan, etil asetat, natrium hidroksida, iodium, kloroform, asam sulfat, asam asetat, asetat anhidrat, Pb (II) Asetat, kertas saring *whatman* cat No. 1001 (125 mm), silika gel 60 (70-230) mesh untuk kolom kromatografi dan plat kromatografi lapis tipis silika gel F-254.

3.1.3. Penyamplingan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji tumbuhan bingkek yang didapat dari hutan kecil Danau Pitir Kecamatan Kepenuhan Kabupaten Rokan Hulu, Provinsi Riau sebanyak 5 kg. Pengidentifikasian tumbuhan dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (ANDA).

3.1.4 Identifikasi tumbuhan

Tumbuhan yang digunakan pada penelitian dilakukan Identifikasi di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Tercatat sebagai spesimen ANDA JM.001.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukankan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas. Untuk perekaman spektrum UV dan Gas Kromatografi (GC) di lakukan Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas, pengukuran spektrum IR dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Andalas. NMR dilakukan di University of Gifu, Jepang, penelitian ini dimulai bulan September 2010 sampai April 2011.

3.3 Identifikasi Profil Fitokimia

3.3.1 Pengujian alkaloid

Pemeriksaan alkaloid, digunakan metoda Culvenor-Fitzgerald dimana sampel biji bingksek sebanyak 5 gram dirajang dan digerus dalam lumpang porselen. Tambahkan 10 mL larutan kloroform amoniak 0,05 M, diaduk kemudian disaring. Kedalam tabung reaksi tambahkan 1 mL asam sulfat 2 N, kocok selama 2 menit, biarkan terbentuk dua lapisan, ambil lapisan asam tambahkan pereaksi Meyer, Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya kabut sampai endapan putih.

3.3.2 Pengujian flavonoid

Pemeriksaan flavonoid digunakan metoda Sianidin test, sebanyak 5 g sampel biji bingkek yang sudah dihaluskan ditambah 25 mL metanol, kemudian dididihkan dan disaring selagi panas, tambahkan aquadest dan petroleum eter dikocok dan di diamkan. Ambil lapisan metanol dan uapkan, setelah kering residu dilarutkan dengan etilasetat dan disaring. Filtratnya diuapkan dan sisanya dilarutkan dalam etanol, kemudian tambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan adanya flavonoid (kecuali untuk flavon).

3.3.3. Pengujian triterpenoid dan steroid

Pemeriksaan steroid dan terpenoid dilakukan dengan pereaksi Liebermann–Burchard. Pemeriksaan dilakukan dengan cara mengambil lapisan kloroform tambahkan norit dan disaring, hasil saringan ditampung pada plat tetes, dibiarkan kering. Kemudian tambahkan satu-dua tetes asam anhidrida asetat, diaduk dan tambahkan satu tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru menandakan adanya steroid dan timbulnya warna merah atau merah ungu menandakan adanya triterpenoid.

3.3.4 Pengujian Fenolik

Pemeriksaan fenolik dilakukan dengan peraksi FeCl_3 . Pemeriksaan dilakukan dengan cara ambil lapisan air masukkan ke dalam tabung reaksi kecil dan tambahkan pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna biru/ungu menandakan adanya kandungan senyawa fenolik.

3.3.5 Pengujian Saponin

Pemeriksaan dilakukan dengan cara mengambil lapisan air masukkan kedalam tabung reaksi dan kocok kuat-kuat, biarkan 15 menit dan terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa tetes HCl pekat menunjukkan adanya saponin.

3.3.6 Pengujian Kumarin

Biji bingkek seberat 2-5 g dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan kapiler, dibiarkan kering pada udara terbuka. Kemudian dielusi dalam bejana yang berisi 10 mL eluen etilasetat. Noda yang dihasilkan dimonitor dengan lampu UV panjang gelombang 365 nm dan terlihat fluoresensi, kemudian noda pada KLT tersebut disemprot dengan NaOH 1 % dan etanol: air (1:1) dimonitor kembali dengan lampu UV maka terlihat fluoresensi yang semakin terang menunjukkan adanya kumarin.

3.3.7. Pengujian Glikosida

3.3.7.1. Persiapan sampel

Sebanyak 5 g sampel yang dianalisa dihaluskan menjadi serbuk. Serbuk yang didapat dilarutkan kedalam campuran (etanol 96% + 3 bagian air) maserasi selama 30 menit, aduk dan saring. Filtrat yang didapat ditambahkan 12,5 mL air dan 12,5 mL Pb(II) asetat 0,4 M kocok, diamkan lalu saring. filtrat yang didapat kemudian campurkan dengan larutan kloroform-isopropanol 3:2. Tambahkan

Na_2SO_4 anhidrat, lalu saring. Uapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C . sisa larutan yang didapat kemudian dilarutkan dengan 5 ml metanol (A).

3.3.7.2. Uji identifikasi umum glikosida (Lieberman-burchard)

Uapkan sebanyak 1 mL larutan A diatas penangas air, sisa yang didapatkan tambahkan asam asetat hidrat kemudian secara perlahan tambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru-merah menunjukkan adanya glikosida.

3.3.7.3. Uji identifikasi glikosida dengan Kromatografi Lapis Tipis

Sebanyak 3 g sampel yang dianalisa dimaserasi menggunakan 5 mL metanol, biarkan selama 5 menit, kemudian saring. Totolkan filtrat yang didapat menggunakan pipa kapiler pada plat KLT, elusi dengan campuran benzen-etanol 7:3. Semprotkan plat KLT dengan anisaldehyd-asam sulfat, panaskan pada suhu 110°C , amati dengan sinar UV 366 nm munculnya bercak biru menandakan adanya glikosida (Jurnal Ilmiah Farmasi, 2010).

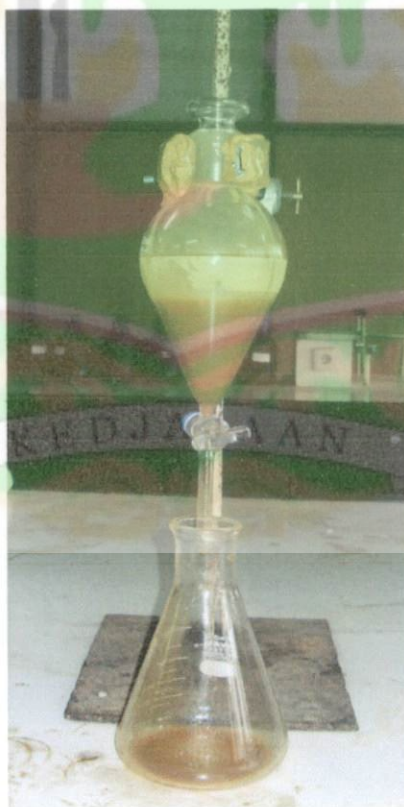
3.4. Ekstraksi

Biji tumbuhan bingkek dikupas dan dikeluarkan isinya, kemudian isi biji tersebut dikering anginkan. Sebanyak 2.6 kg dimaserasi dengan 5 L metanol selama 3 hari kemudian hasil maserasi disaring dan maserasi diulangi hingga lima kali.

Setiap filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu $40-45^\circ\text{C}$, kemudian ditimbang dan ekstrak kental yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin sampai penggunaan selanjutnya.

Ekstrak metanol yang telah dikumpulkan dan ditimbang beratnya selanjutnya difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Pada fraksinasi n-heksan, 400 g ekstrak metanol dimasukkan kedalam corong pisah dan difraksinasi dengan 300 mL n-heksan, kemudian dikocok dan dibiarkan selama 2 jam hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan atas (n-heksan) berwarna bening dan lapisan bawah (metanol) berwarna coklat muda. Fraksinasi diulangi hingga 5 kali, sehingga total volume n-heksan terpakai sebanyak 1,5 L.

Fraksinasi selanjutnya dilakukan dengan pelarut etil asetat dengan cara yang sama dengan fraksinasi diatas. Setelah dibiarkan selama 4 jam lapisan etil asetat dan metanol dipisahkan, lapisan etil asetat (atas) berwarna putih keruh. Sedangkan lapisan metanol berwarna coklat muda. Proses fraksinasi dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Fraksinasi biji tumbuhan bingkek

Untuk mengetahui jumlah komponen yang ada dalam hasil ekstrak dilakukan pemantauan dengan menggunakan kromatografi lapisan tipis. Melihat analisa noda kumarin, maka plat kromatografi lapisan tipis disemprot dengan larutan NaOH/KOH dalam metanol. Kemudian plat kromatografi lapisan tipis tersebut disinari dengan lampu UV 365 nm atau bisa juga dengan menggunakan uap I_2 atau dengan menggunakan amonia. Untuk senyawa triterpenoid/ steroid, dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi Liberman-Burchard modifikasi, asam sulfat 2N. Cara tersebut dilakukan berulang kali dengan memvariasikan eluen n-heksan, etil asetat, dan metanol sehingga pada eluen tertentu terdapat noda-noda yang terpisah dengan baik.

3.5. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Sebanyak 0,618 g bubuk putih hasil fraksinasi etil asetat diberi silika gel diaduk hingga kering dan merata. Kemudian bubuk sampel ini dimasukkan kedalam kolom, selanjutnya pengelusian dapat dilakukan. Pola elusi yang dilakukan adalah peningkatan kepolaran secara bertingkat menggunakan eluen etil-metanol.

3.6. Pengujian hasil pemisahan dengan KLT

Hasil pemisahan secara kromatografi kolom selanjutnya dilakukan pengujian dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Plat KLT diberikan batas atas dan bawah, masing-masing 0,5 cm dari atas dan bawah plat. Masing-masing fraksi ditotolkan pada plat KLT sesuai dengan nomor yang telah diberikan. Selanjutnya dielusi sampai pada batas atas plat yang telah ditandai, kemudian plat diangkat. Tandai noda yang dihasilkan dengan pensil yang dibantu melihatnya dengan

lampu UV atau pereaksi penampak noda. Noda yang memberikan Rf yang sama bisa digabungkan menjadi satu fraksi.

3.7. Rekristalisasi

Jika didapat komponen berupa padatan yang masih kotor maka dilakukan rekristalisasi untuk menghilangkan pengotor sehingga didapatkan senyawa yang murni. Cara melakukan rekristalisasi adalah dengan mencari pelarut untuk kristal yang tidak larut pada suhu kamar, tetapi larut bila dipanaskan. Filtrat yang didapat kemudian didinginkan sampai terbentuk kristal yang sempurna. Kristal disaring dan dicuci dengan pelarut yang dingin dan dikeringkan. Kristal yang telah direkristalisasi diuji kemurnian dengan KLT dan titih leleh.

3.8. Karakterisasi senyawa hasil isolasi

3.8.1. Pengukuran titik leleh

Alat yang digunakan adalah Fisher-Jhon Melting Point Aparatus. Kristal yang diperiksa titik lelehnya dimasukkan kedalam pipa kapiler dan ditaruhkan disamping pelat logam yang dipanaskan dengan listrik. Suhu dapat dibaca melalui termometer yang dihubungkan dengan pelat logam. Suhu dinaikkan dengan mengubah arus masuk kedalam pemanas. Kristal diamati melalui kaca pembesar yang diterangi lampu, kemudian suhu dinaikkan perlahan. Pembacaan titik leleh dilakukan pada saat kristal mulai dan habis meleleh. Senyawa yang murni akan menunjukkan range titik leleh yang tajam ($1-2^{\circ}$) pada saat meleleh.

3.8.2. Perekaman spektrum ultraviolet

Kira-kira 1 mg kristal dilarutkan kedalam 100 mL metanol. Alat spektrometer diatur daerah serapannya antara 200-400 nm. Masukkan larutan kristal dalam kuvet dan ukur serapannya dan tentukan serapan maksimumnya. Lakukan pula dengan penambahan pereaksi geser yaitu larutan natrium metoksida, aluminium klorida, asam borat dalam metanol dan sedikit kristal natrium asetat. Masukkan larutan kristal kedalam kuvet dan tambahkan beberapa pereaksi geser. Sedangkan untuk kristal natrium asetat tambahkan sedikit kristalnya. Aduk larutan kristal sampai homogen dan tunggu kira-kira 5 menit. Ukur serapan maksimum larutan kristal tersebut.

3.8.3. Karakterisasi menggunakan Gas Kromatografi (GC)

Kira-kira 1 mg kristal dilarutkan kedalam 100 mL metanol. Ukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV dan tentukan serapan maksimumnya. Larutan yang telah ditentukan serapan maksimum dan Absorbansinya kurang dari 2 diambil sebanyak 2 mikro liter dan disuntikkan dedalam alat GC. Kenaikan temperatur diatur 2°C tiap 1 menit selama 120 menit. Data yang didapat dibandingkan dengan data base GC (Amorin, 2009).

3.8.4. Perekaman spektrum inframerah

Perekaman spektrum inframerah dilakukan dengan menggerus 1 mg Kristal dengan 100 mg KBr kemudian dijadikan pellet dengan memberikan tekanan tinggi. Pelet diletakkan pada alat spektrofotometer inframerah dan diukur spektrumnya, Puncak-puncak dinyatakan dalam satuan cm^{-1} .

3.8.5. Perekaman spektrum resonansi magnetik inti

Spektrum resonansi magnetik inti direkam dengan alat spektroskopi JEOL 600 MHz JNM-ECA. Spektrum ini direkam dalam pelarut Metanol, Pergeseran kimia dinyatakan dengan ppm dan konstanta kopling dalam Hertz.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Profil Fitokimia Biji Tumbuhan Bingkek

Hasil pengujian kandungan metabolit sekunder (alkaloid, flavonoid, triterpen, steroid, fenolik, saponin dan kumarin dari isi biji tumbuhan bingkek dapat dilihat pada Tabel 1, dibawah ini:

Tabel 1. Pengujian profil fitokimia biji bingkek

No	Metabolit sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
1.	Alkaloid	Mayer	Terbentuk endapan putih	(+)
2.	Flavonoid	Sianidin test	Tidak terbentuk larutan orange-merah	(-)
3.	Steroid	Lieberman-burchard	Tidak terbentuk larutan biru	(-)
4.	Triterpenoid	Lieberman-burchard	Larutan merah-ungu	(+)
5.	Fenolik	FeCl ₃	Larutan biru/ ungu	(+)
6.	Saponin	H ₂ O	Terbentuk busa	(+)
7.	Kumarin	NaOH/Etanol/Air	Fluorisensi semakin terang	(+)
8.	Glikosida	Liberman-Burchard/ Anisaldehyd-H ₂ SO ₄	Merah Biru	(+) (+)

Uji fitokimia metabolit sekunder biji tumbuhan bingkek menunjukkan hasil yang positif pada pengujian alkaloid, hal ini ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Hasil ini sama dengan yang pernah dilaporkan oleh Heyne, (1997) Pada uji flavonoid tidak menghasilkan larutan berwarna orange-merah, demikian juga pada uji steroid terbentuk larutan bening, Ini menunjukkan bahwa biji tumbuhan ini tidak mengandung flavonoid, dan steroid.

Pada pengujian triterpenoid, fenolik dan kumarin menunjukkan hasil yang positif. Ini ditandai dengan larutan merah-ungu setelah penambahan pereaksi Libermann-Burchard, terbentuknya larutan biru/ungu setelah penambahan FeCl_3 menunjukkan hasil yang positif pada uji fenolik dan fluoresensi yang semakin terang dengan penambahan NaOH menunjukkan hasil yang positif pula pada uji kumarin.

4.3. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Biji Tumbuhan Bingkek

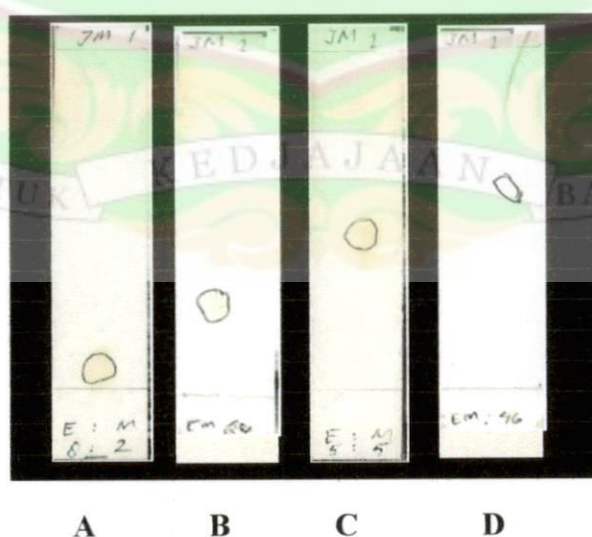
Biji tumbuhan bingkek sebanyak 5 kg dikupas dan dipisahkan antara kulit dan isi bijinya. Dari pemisahan tersebut didapat sebanyak 2.6 kg biji. Isi biji tersebut dihaluskan dengan cara di grinder dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol pada suhu kamar selama 3 x 24 jam dengan 5 kali pengulangan. Dari hasil maserasi yang telah di pekatkan dengan rotari evaporator didapat ekstraknya kental metanol sebanyak 930 g, 35,76 (%)

4.4. Fraksinasi Ekstrak Biji Bingkek

Sebanyak 400 g ekstrak kental metanol difraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksan sejumlah 2 L, dan dilanjutkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 2 L. dan didapat tiga fraksi, yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Karena fraksi etil asetat menghasilkan endapan berupa bubuk-bubuk putih dan memberikan pemisahan noda yang lebih baik dengan kromatografi lapis tipis maka penelitian difokuskan pada fraksi etil asetat, khususnya pemurnian bubuk putih tersebut.

4.5. Pemurnian fraksi etil asetat Biji Bingkek menggunakan kromatografi kolom

Hasil pemurnian 0,618 g bubuk putih setelah dipisahkan dengan kromatografi kolom dan dilakukan rekristalisasi menggunakan n-heksan-metanol di dapat bubuk putih yang murni sebanyak 78 mg dan setelah dilakukan uji titik leleh terdekomposisi mulai pada suhu 202°C . Identifikasi dengan pereaksi Liebermann-Burchard (LB) memberikan warna merah pada plat kromatografi lapis tipis fasa normal (KLT) bila dilihat lampu UV 365 nm. Ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa glikosida. Hasil monitoring selanjutnya memberikan noda tunggal pada plat KLT berbagai komposisi eluen yaitu Rf 0,11 (Etil asetat : Metanol (8:2) Rf 0,23 etil asetat : metanol (4:6), Rf 0,4 (Etil asetat : Metanol (5:5) Rf : 0,52 (Etil asetat : Metanol (6:4)), berdasarkan hasil diatas, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi relatif murni dan siap untuk dilakukan pengukuran dengan spektroskopi. Profil KLT senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Profil KLT senyawa hasil isolasi dengan berbagai variasi eluen setelah disemprotkan pereaksi Lieberman-Burchard (LB)

4.6. Analisis Gas kromatografi senyawa senyawa hasil isolasi

Senyawa hasil isolasi dilakukan pengukuran menggunakan alat Gas kromatografi (GC) dengan metanol sebagai pelarut. Hasil pengukuran didapat adanya satu puncak tunggal yang tinggi pada waktu retensi 86,1 menit, ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi telah cukup murni. Hasil analisis kromatografi gas dapat dilihat pada Gambar 4 dibawah ini.



Gambar 4. Hasil pengujian kromatografi gas senyawa hasil isolasi

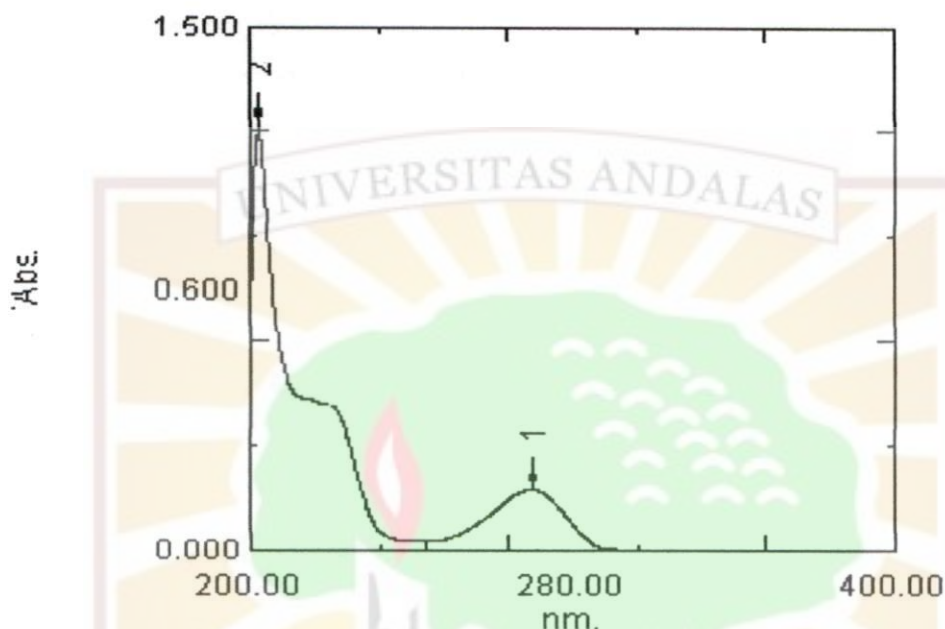
4.7. Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Isolasi

Hasil pengukuran untuk elusidasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan spektroskopi Ultraviolet (UV), Infra merah (IR), dan Nuclear Magnetic Resonance (^1H -NMR dan ^{13}C -MR).

4.7.1. Analisis spektrum ultraviolet

Data spektrum senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang (λ) 202 dan 287 nm. Analisis spektrum Gambar dibawah ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi memiliki ikatan rangkap

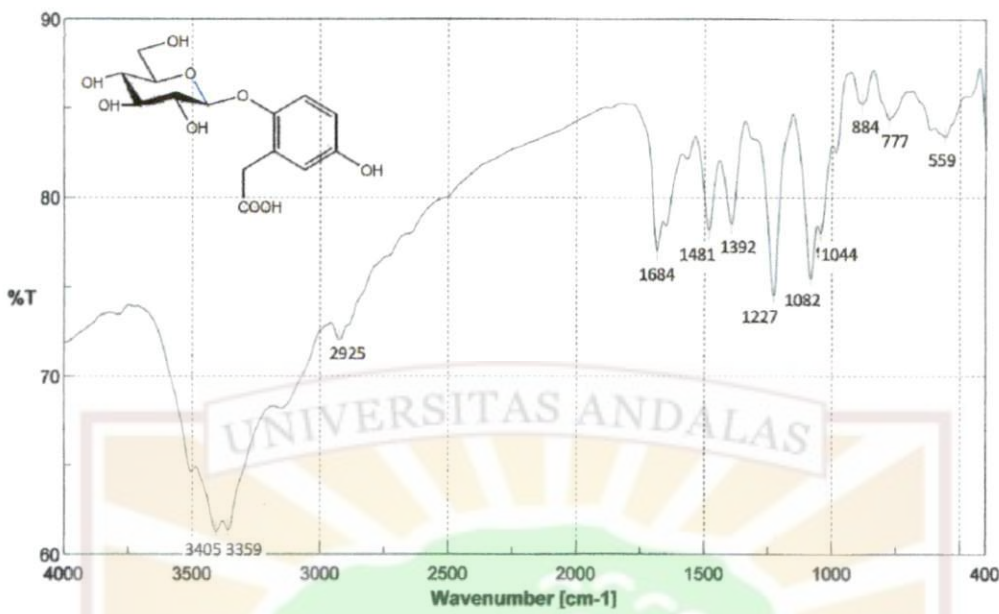
berkonyugasi dari senyawa aromatik yang tersubsitusi. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 5 dibawah ini.



Gambar 5. Spektrum ultraviolet senyawa hasil isolasi

4.7.2. Analisis spektrum infra merah

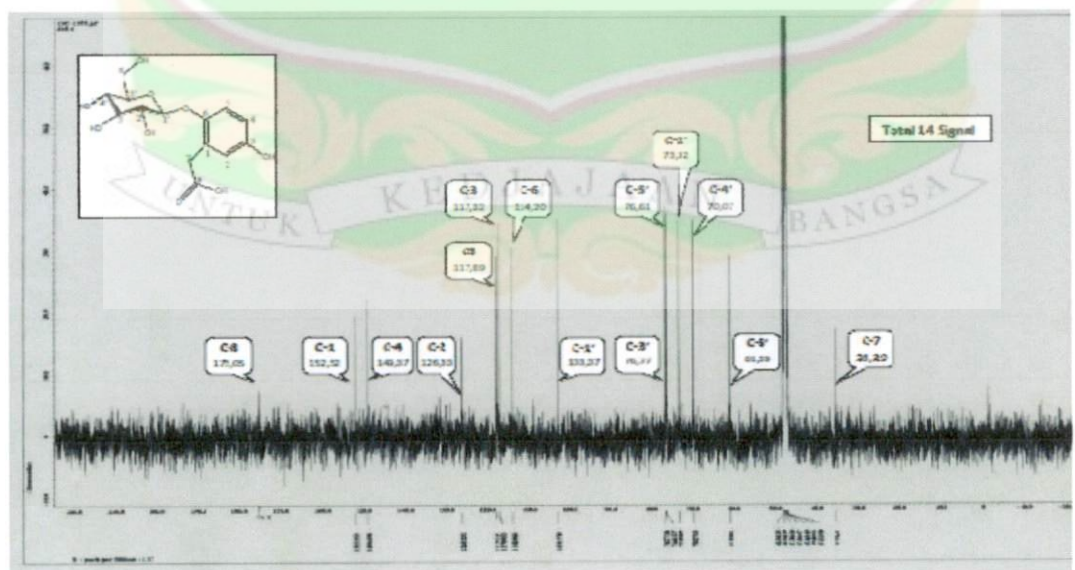
Spektrum Infra merah (IR) senyawa hasil isolasi memperlihatkan serapan melebar pada bilangan gelombang ν_{\max} 3405 dan 3359 cm^{-1} ini mengindikasikan adanya gugus hidroksil (OH), pita serapan pada bilangan gelombang ν_{\max} 2925 cm^{-1} merupakan serapan C-H aromatik, pita serapan pada bilangan gelombang ν_{\max} 1684 cm^{-1} merupakan serapan dari karbonil (C=O), sedangkan ν_{\max} 1082 merupakan ciri khas ikatan C-O. Gambar spektrum infra merah mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi mengandung gugus karboksilat, senyawa aromatik, dan eter. Spektrum senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 6 dibawah ini.



Gambar 6. Spektrum infra merah senyawa hasil isolasi

4.7. 3 Spektroskopi ¹³C-NMR (¹³C- Nuclear Magnethic Resonance)

Data pergeseran kimia spektrum ¹³C-NMR dan nilai pergeseran kimia dari senyawa hasil isolasi menggunakan metanol sebagai pelarut pada frekwensi 150 Mhz dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 7. Spektrum ¹³C-NMR senyawa hasil isolasi

Dari Gambar 7. diatas dapat dilihat bahwa senyawa hasil isolasi memiliki 14 puncak yang menunjukkan jumlah atom karbon sebanyak 14 buah. Munculnya satu puncak pada δ 172 menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi mengandung gugus karboksilat. Hadirnya beberapa puncak pada pergeseran diatas 110 mengindikasikan adanya cincin karbon aromatik. Tidak adanya puncak dibawah δ 30 meyakinkan bahwa senyawa ini tidak mengandung gugus $R-CH_3$. Nilai pergeseran kimianya dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini.

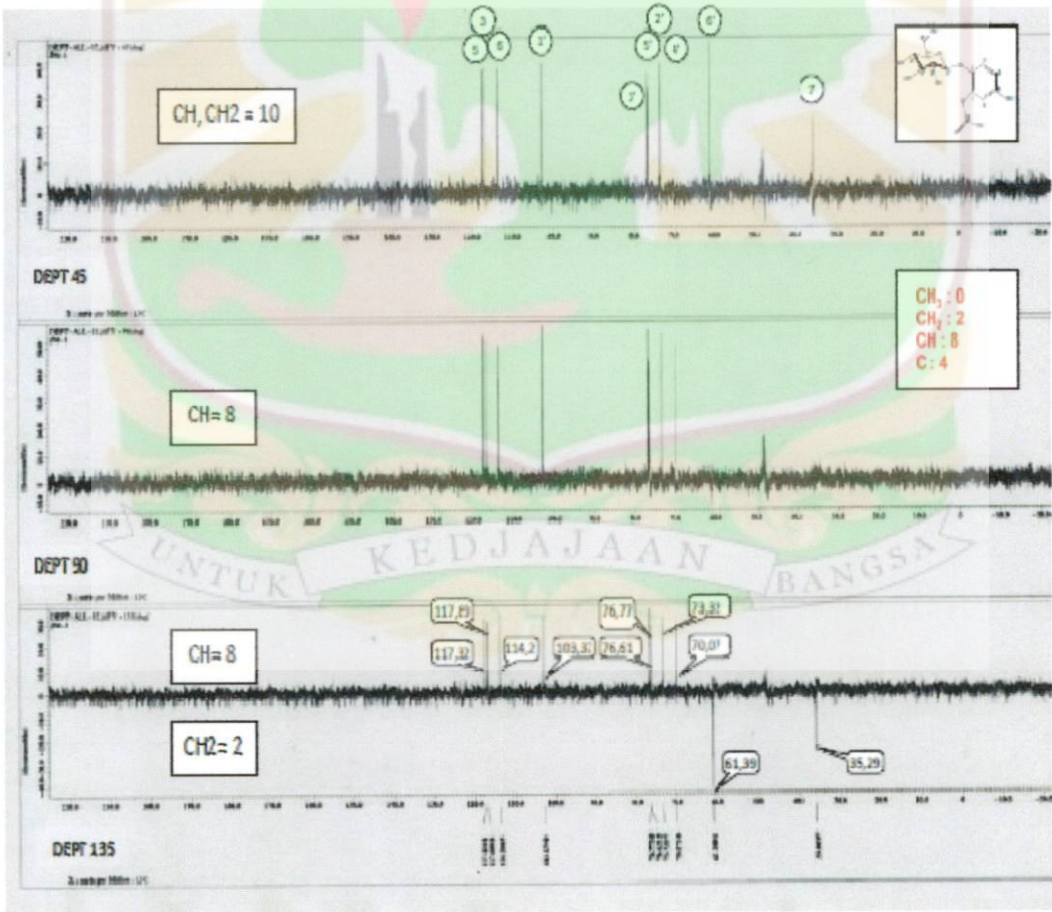
Tabel 2. Spektra data ^{13}C -NMR senyawa hasil isolasi

Nomor atom C	Pergeseran Kimia (δ_C) Senyawa hasil isolasi	Jenis pergeseran
C1'	103,37	-CH-O-
C2'	73,32	CH (glkosida)
C3'	76,77	CH (glikosida)
C4'	70,07	CH (glikosida)
C5'	76,61	-CH-O-
C6'	61,39	-CH ₂ -
C1	152,52	C (aromatis)
C2	126,33	CH (aromatis)
C3	117,32	C (aromatis)
C4	149,37	CH (aromatis)
C5	117,89	CH (aromatis)
C6	114,20	C (aromatis)
C7	35,29	-CH ₂ -
C8	173,05	C (karboksilat)

Tabel 3. diatas menunjukkan nilai pergeseran kimia senyawa hasil isolasi. Dari tabel tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi terdiri dari senyawa aromatis, glikosida dan gugus karboksilat. Nilai ini mendukung bahwa senyawa hasil isolasi adalah phaseoloidin.

4.7.4 Spektroskopi DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*)

Spektrum NMR karbon DEPT senyawa hasil isolasi dilakukan pada frekwensi 45, 90 dan 135 MHz. Gambar spektrumnya dapat dilihat pada Gambar 8 dibawah ini.

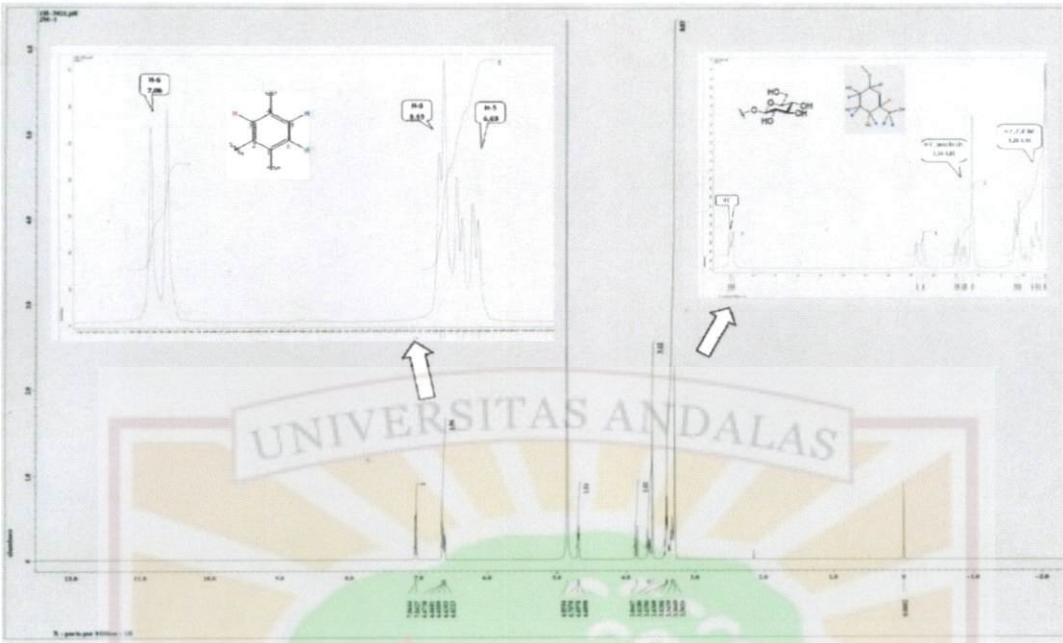


Gambar 8. Spektrum DEPT senyawa hasil isolasi

Data spektrum DEPT 45 MHz digunakan untuk menunjukkan jumlah gugus CH, CH₂, dan CH₃. Spektrum DEPT 90 MHz digunakan untuk melihat adanya gugus CH sedangkan data spektrum DEPT 135 dapat menunjukkan jumlah atom primer (CH), sekunder (CH₂), tersier (CH₃) dan kuartener (C). Pada gambar 8 spektrum DEPT 45 MHz diatas dapat dilihat 10 puncak. Sepuluh tersebut adalah dua CH₂ dan delapan CH. dugaan ini dapat dibuktikan pula oleh munculnya delapan puncak keatas pada spektrum DEPT 90 MHz yang mencirikan ikatan CH dan munculnya puncak kebawah sebanyak dua puncak pada spektrum DEPT 135 MHz yang mencirikan CH₂. dari total jumlah atom C sebanyak 14 atom didapat kesimpulan bahwa CH berjumlah delapan, CH₂ ada dua puncak, sedangkan CH₃ tidak ada dan C ada empat atom. Nilai ini menunjukkan karakteistik yang sama dengan kerangka struktur senyawa phaseoloidin.

4.7.4 Spektroskopi ¹H-NMR (*¹H-Nuclear Magnetic Resonance*)

Spektrum ¹H-NMR berguna untuk menunjukkan signal proton yang muncul pada pergeseran kimia tertentu. Karakterisasi spektrum ¹H-NMR senyawa hasil isolasi memperlihatkan pola yang spesifik, diantaranya adanya signal pada δ 7,06, 6,65, dan 6,63, yang mencirikan adanya senyawa aromatik yang tersubsutusi, munculnya δ 3,28-3,37 yang menunjukkan 5 atom H dari H-2', 3',4'6'. Sedangkan yang mencirikan 2 proton pada H-7 dan H-5' muncul pada δ 3,36 -3,85. Untuk proton glukosil muncul pada δ 4,70. Data spektrum ¹H-NMR senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 9 dibawah ini.



Gambar 9. Spektrum ¹H-NMR senyawa hasil isolasi

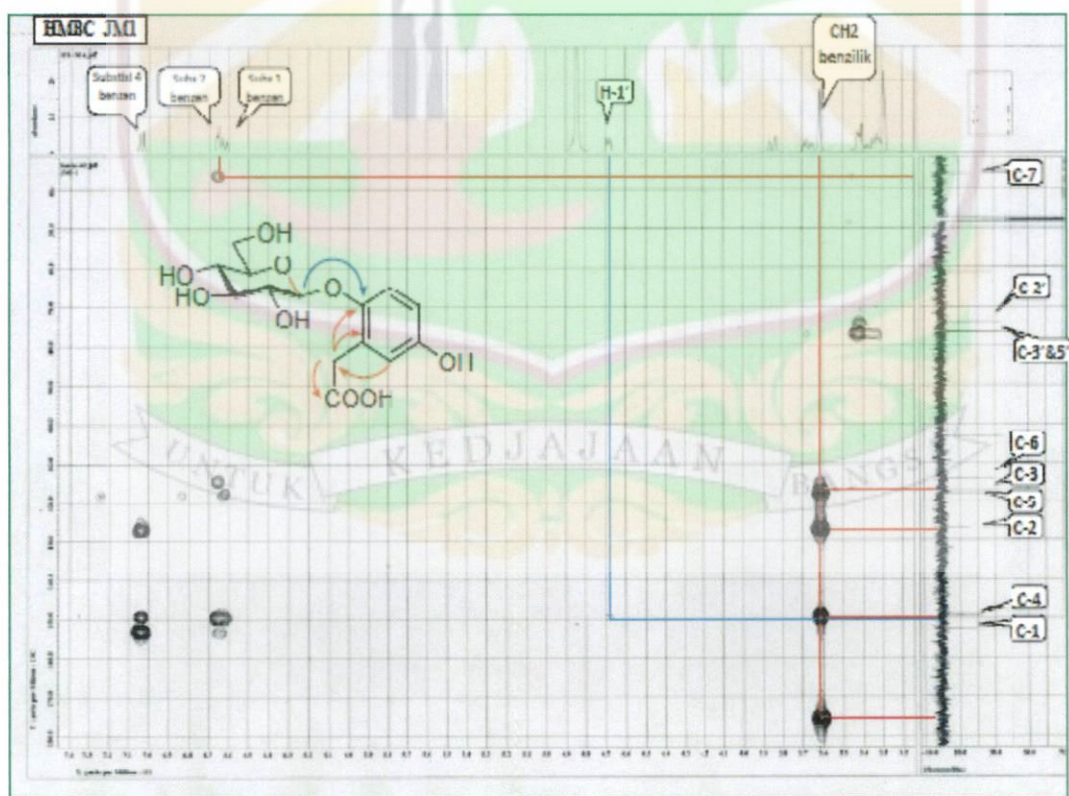
Nilai pergeseran kimia senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 3 dibawah ini

Tabel 3. Nilai pergeseran kimia spektrum ¹H-NMR senyawa hasil isolasi

Atom H	δ, ppm
H-1'	4,70 (1H)
H-2',3',4',6'	3,28-3,37 (5H, m)
H-5',CH ₂ benzilik	3,36-3,85 (3H, m)
H-glukosil	4,70 (1H,br)
H-1 substitusi Aromatik	6,63 (1H),
H-2 substitusi Aromatik	6,65 (1H,)
H-4 substitusi Aromatik	7,06 (1H,)

4.7.5 Spektroskopi HMBC (^1H - ^{13}C Heteronuclear Multiple Bond Connectivity)

Spektrum HMBC berguna untuk memberikan informasi letak proton terhadap karbon dengan mempelajari korelasi yang terjadi (dua atau tiga ikatan) antara proton dengan karbon sehingga dapat diketahui pola substitusi struktur senyawa. Dari spektrum HMBC senyawa hasil isolasi dapat dilihat adanya korelasi antara dua proton (2H) pada H-7 dengan atom karbon pada posisi C-1, C-2, C-3 dan C-8 (COOH), proton pada H-3 berkorelasi dengan C-7 (warna merah). Korelasi proton H-1' juga terjadi dengan atom C-1 (warna biru). Pola korelasi ini mendukung dengan pola korelasi HMBC senyawa phaseoloidin. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 10 dibawah ini.



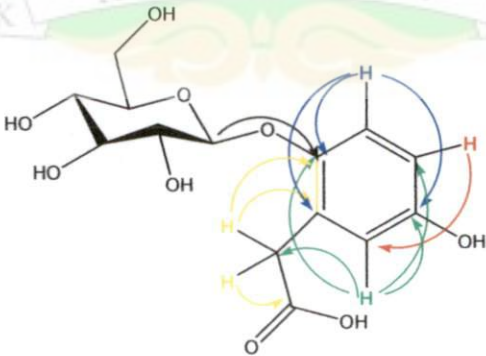
Gambar 10. Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi

Masing-masing senyawa memiliki karakterisitik HMBC yang spesifik, demikian halnya dengan senyawa hasil isolasi. Perbandingan nilai korelasi HMBC senyawa hasil isolasi terhadap senyawa standar (phaseoloidin) disajikan dalam lampiran 2.

Tabel 4. Korelasi HMBC senyawa hasil isolasi

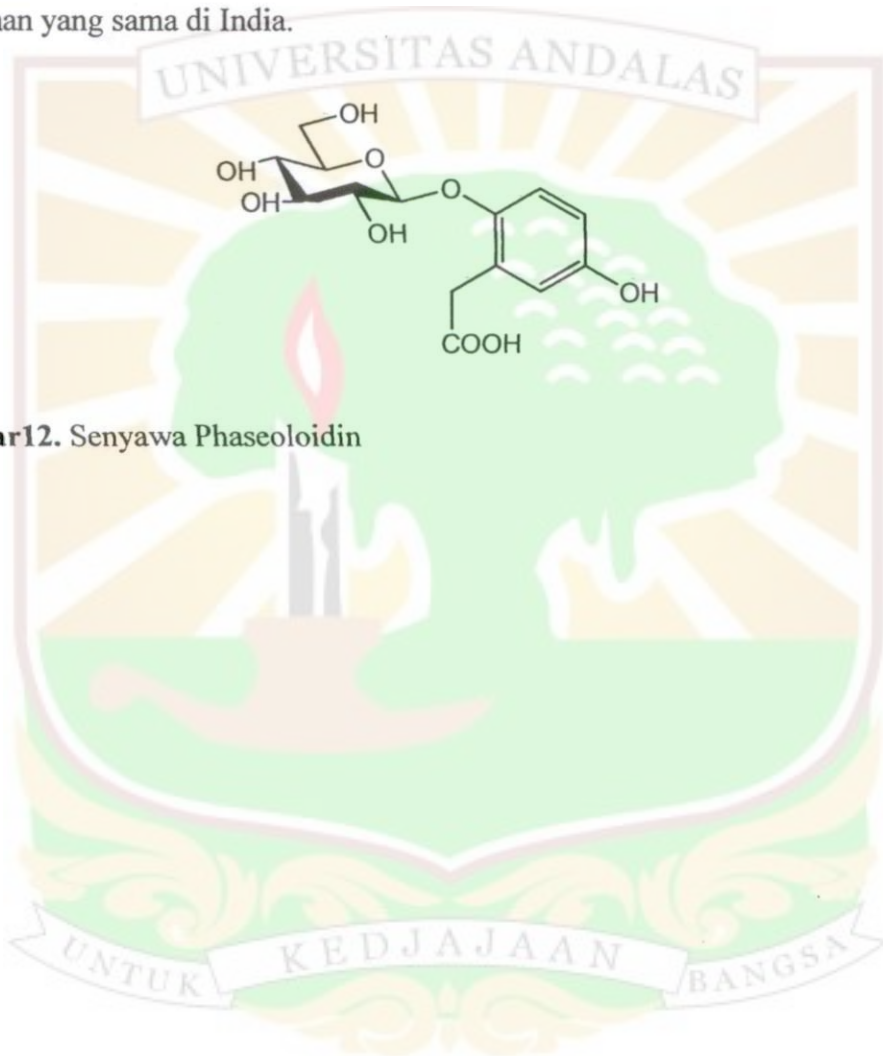
Atom H	Senyawa hasil isolasi
2	-
3	C-1, 4, 5, 7
5	C-3
6	C-1, 2, 4
7	C-1, 2, 8
1'	C-1
2'	-

Dari Tabel 5 dapat dilihat korelasi antara senyawa hasil isolasi. Analisis sifat fisik dan elusidasi struktur baik spektroskopi UV, IR, ¹³C-NMR, ¹H-NMR senyawa hasil isolasi memiliki karakteristik yang hampir sama dengan senyawa phaseoloidin (Lampiran 2) . Korelasi senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 11 dibawah ini.



Gambar 11. Korelasi HMBC senyawa hasil isolasi

Berdasarkan analisa data-data spektroskopi UV, IR, ^{13}C NMR, DEPT, ^1H NMR dan HMBC mendukung usulan senyawa hasil isolasi sebagai suatu glikosida fenol yang dikenal dengan nama phaseoloidin [2-(β -D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat] Gambar 12. Selanjutnya, berdasarkan penelusuran literatur senyawa ini sudah pernah di temukan dari tumbuhan yang sama di India.

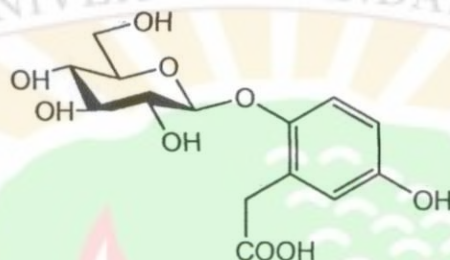


Gambar12. Senyawa Phaseoloidin

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan pada biji tumbuhan bingkek didapat kesimpulan bahwa senyawa yang didapat berdasarkan data spektroskopi adalah phaseoloidin (2-(β -D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat).



5.2 Saran

Beberapa saran untuk penelitian lanjutan diantaranya:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada akar, batang, daun dan tumbuhan untuk mengungkap kandungan kimia dari tumbuhan ini, mengingat baru sedikit kandungan kimia tumbuhan ini yang baru dilaporkan.
- Senyawa phaseoloidin merupakan senyawa glikosida yang tidak sulit untuk mengisolasinya, sehingga perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut tentang manfaat senyawanya ini sebagai bahan obat-obatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 2006. Kimia Bahan Alam dan Potensi keanekaragaman Hayati, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia dan Penelitian Potensi Keanekaragaman Hayati, Universitas Andalas.
- Ahuja, S. 2003. Chromatography and Separation Science, Academic Press. USA
- Amorim, A.C., Lima, C.K., Hovel, A.M., Miranda, A. L., dan Rezende, C. M. 2009. Antinociceptive and Hypothermic Evaluation of Leaf Essential Oil and Isolated Terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). *J. Phytomedicine* 16. 923-928.
- Barua, A. K. 1966. The Constitution of Entagenic Acid—A new Triterpenoid Sapogenin from *Entada phaseoloides* Merril. *J. Tetrahedron*, Vol. 23 1499-1503.
- Barua, A. K., Chakrabarty, M., Datta, P.K., dan Ray, S. 1988. Phaseoloidin, A Homogentisic Acid Glucoside From *Entada phaseoloides*. *J. Phytochemistry*, Vol. 27. No. 10. 3259-3261.
- Braitmaier, E. 2006. Terpenes. Flavors, Fragrances, Farmaca, Pheromones. Jhon Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publishing. Jerman.
- Boeskler, G., Gerhenson, J., dan Unsicker, S.B. 2011 Phenolic Glycosides of the Salicaceae and their Role as Anti-herbivore defences. Department of Biochemistry, Max Planck Institute, Jerman.
- Capra, C. J., Cunha, M. P., Machado, D. G., Zomskowski, A.D. E., Mendes, B. G., Santos, A. R.S. Pizzolatti, M. G., dan Rodrigues, A. L. S. 2010. Antidepressant-like effect of Scopoletin, a New Coumarin Isolated from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae) in mice: Evidence for Involvement of monoaminergic System. *J. European Jurnal Pharmacology* 643. 232-238.
- Chumaidah, N.F. dan Ersam, T. 2006. Isolasi dan Uji Antimikrobial Senyawa Kumarin dari Fraksi Polar pada Ekstrak Etil Asetat *Garcinia balica*. Miq (Mandu Alas). Jurusan Kimia FMIPA ITS, Surabaya.
- Cioffi, G., Piaz, F.D., Caprariis, P., Sanogo, R., Marzocco, S., Autore, G., dan Tommasi, D. 2006. Antiproliferative Triterpene Saponins from *Entada Africana*. *J. Nat. Prod.* Vol 69 (9). 1323-1329
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Colombia. University Press. New York. 316-318.

- Dai, J., Kardono, L.B.S., Tsauri, S., Padmawinata, K., Pezzuto, J.M., Douglas, K. 1991. Phenylacetit Acid Derivates and A Thiamide Glycoside from *Entada phaseoloides*. *J. Phytochemistry*, Vol. 30, No. 11, 3749-3752.
- Diallo, D., Paulsen, P.S., Liljeback, T.H., Michaelsen, T.E. 2001. Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. Et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. *J. Ethnopharmacology* **74**, 159-171
- Dong, Y., Shi, H., Wang, M., dan Xiaobo. 2009. A Validated LC Method for Simultaneous Determination of Three Major Component in *Entada phaseoloides*. *J. Chromatographia*. **71**. 125-129
- Ekaprasada, M. T. 2010. Penentuan Struktur Senyawa Karotenoid, Steroid, Fenolik, dan Identifikasi Minyak Atsiri Daun Surian (*Toona sureni* (Blume) Merr) Serta pengujian Biokativitasnya. Disertasi Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Feiburgghaus, F., Steck, A., Pfander, H., dan Brun, R. 1998. Bioassay-guided Isolation of a Distereoisomer of kolavenol from *Entada abyssinica* active on *Trypanasoma brucei*. *J. Etnopharmacology* **61**. 179-183
- Feng, S., Xu, L., Wu, M., Hao, J., Qiu, X.S., Wei, X. 2010. A new coumarin from *Sarcandra glabra*. *J. Fitoterapia*. **81**. 472-474
- Gotawa, I. B. I., S., Sugiarto, M., Nurhadi, Y., Widiyastuti, S., Wahyono, I. J. Prapti. 1999. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid V. Departemen Kes. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta. 147-148.
- Harborne, J.B. 1987. *Metoda Fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata & Iwang Sudiro. ITB, Bandung.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Jilid III. 1390-1443.
- Hui, X., Xiao, E., Ying-hong, Z., Guang-zhong, Y., Zhi-nan, M. 2010. Sulfur Containing Amides from (*Entada phaseoloides*) *J. Acta Pham Sin* Vol. **45** 624-626
- Ibrahim, S., Iqbal, M., dan Arifin, B. 2007. Isolasi kumarin dari Biji Pinang (*Areca catechu* L.). *J. Ris. Kim.* Vol 1. N o.1 50-53
- Ikegami, F., Ohmiya, S., Ruangrunsi, N., Sakai, S. dan Murakoshi, I. 1987. Entamide B, A Second New sulphur-containing Amide From *Entada Phaseoloides*. *J. Phytochemistry*. Vol. 26, No. 5, 1525-1526

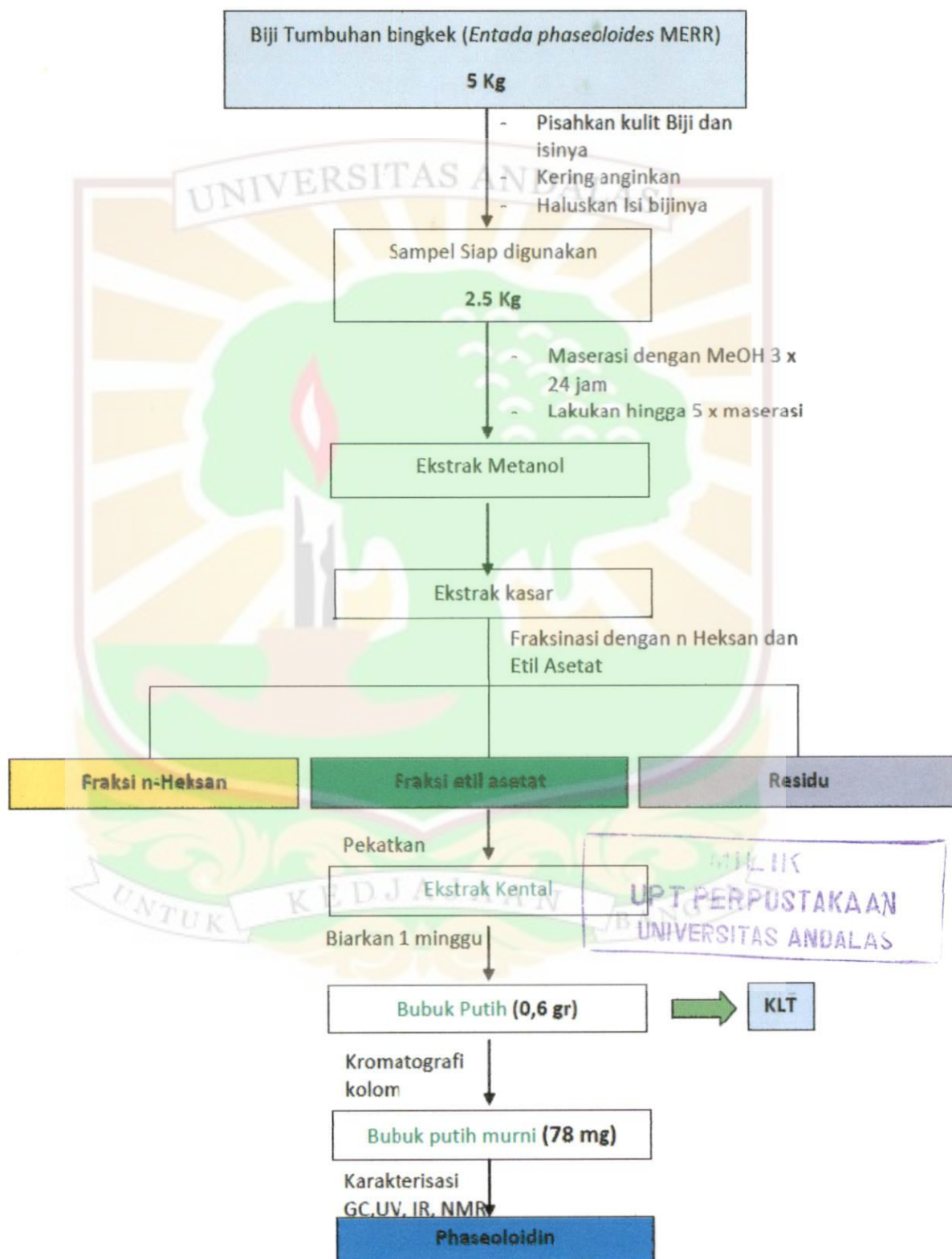
- Kristanti, A. F., Aminah, N. S., Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Penerbit Airlangga University Press. Surabaya.
- Larsen, P.O., Pedersen, E., Sorensen, H., dan Syrupy, P. 1973. Tyrosine O-Glucoside dan Dopamine 3-O-Glucoside in Seeds of *Entada purshatea*. *J. Phytochemistry* 1, 973, Vol. 12, 2243-2247
- Lage, H. 2010. Antitumor Activity of Terpenoids Against Classical and atypical multidrug Resistant Cancer Cell. *J. Phytomedicine* 17. 441-448
- Li-Juan, L dan Min-Hui, L. 2009. Terpenoid, Flavonoid and Xanthones from *Gentianella acuta* (Gentianaceae). *J. Biochemical Systematics and Ecology*. 37. 497-500
- Liu, W. C., Kugelman, M., Wilson, R. A., dan Rao, K. V. 1972. A Crystalline Saponin with Anti-Tumor Activity from *Entada Phaseoloides*. *J. Phytochemistry* Vol. 11, 171-173
- Lingaraju, M. H., dan Gowda, L. R. 2008. A Kunitz Trypsin of *Entada scandar* seed: Another member with single disulfide bridge. *J. Biochimica et Biophysica Acta*. 1784. 850-855
- Mitchell, T.N., dan Costisella, B. 2007. *NMR From Spectra to Structures, an Experimental Approach. 2nd edition*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany
- Mohamed, N.H., dan Maharous, A. E. 2009. Chemical Constituents of *Descurainia Sophia* L and its Biological Activity. *J. Rec. Nat. Prod.* 3:1 58-67
- Murray, R. D. H., J. Mendez, S. A. dan Brown., 1982. *The Natural Coumarins (Occurrence, Chemistry and Biochemistry)*, John Wiley & Sons, New York.
- Nzowa, L. K., Barboni, L., Teponno, R. B., Ricciutelli, M., Lupidi, G., Quassinti, L., Bramucci, M., dan Tapondjou, L.A. 2010. Rheediinosides A and B, two Antiproliferative and antioxidant triterpene saponin from *Entada rheedii*. *J. Phytochemistry*. 71. 254-261.
- Najib, A. 2007. Glikosida. ([www. Nadjeb.worldpress.com](http://www.Nadjeb.worldpress.com))
- Olajide, O.A dan Alada, A.R. 2001. Studies on the anti-inflammatory properties of *Entada abyssinica*. *J. Fitoterapia*. 72(5):492-496.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., dan Vyvyan, J.R. 2007. Introduction To Spectroscopy. Department of Chemistry Western Washington University. Bellingham, Washington. USA.

- Pridam, JB., Saltmarsh, M. 2000. The Biosynthesis of phenolic Glucosides in Plant. Department of Chemistry Royal Holloway, Englefield, Surrey
- Pria, S. dan Rao, S. 2008. Exploration of Tribal Knowledge of *Entada pursaetha* DC: An Endangered Gigantic Medicinal Legume in Eastern Ghats. *J. Ethnobotanical Leaflets* 12: 36-43.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerbit ITB Bandung, 57-83
- Santoni, A. 2009. Elusidasi Struktur Flavonoid Triterpenoid dari Kulit Batang Surian (*Toona sinensis*) dan Identifikasi Minyak Atsiri Daun Surian Serta Ujiaktivitas insektisida. Disertasi Pascasarjana Universitas Andalas. Padang
- Silverstein, RM., G.C. Bessler and T.C. Moril, 1989, *Spektrometric Identification of Organic Compound* (Penyidikan Spektroskopi Senyawa Organik), terjemahan A.J. Hartono dan Any Victor Purba, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Sitorus, M. 2009. *Spektroskopi Elusidasi Struktur Molekul Organik*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. UGM Press, Yogyakarta.
- Sun Kim, J., Hee Shim, S., Nan Xu, Y., Kang, S.S., Ho Son, K., Chang, H.W., Pyo Kim, H., and Bae, K. 2004. Phenolic Glykoside from *Pyrola japonica*. *J. Chem. Pharm. Bull.* 52(6) 714-717
- Stuart, B. 2004. *Infra Red Spectroscopy, Fundamental and Application*. Jhon Wiley & Sons. Ltd.
- Suryati. 2010. Germanikol Sinamat, Suatu Triterpenoid Baru dan Triterpenoid lainnya serta Steroid dari Daun Tabat barito (*Ficus deltoideus* Jack). Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Andalas.
- Tapondjou, A.I., Miyamoto, T., Mirjolet, J., Guilbaud, N., dan Dubois, M.L. 2005. Pursaethosides A-E, Triterpene Saponins from *Entada pursaetha*. *J. Nat. Prod.*, Vol 68 (8), pp 1185-119
- Utami. N., dan Robara. M. 2008. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Heksana daun *Ageratum conyzoides*. Lin. Prosiding Hasil Penelitian Unila
- Wixom, R. L dan Gehrke, C. W. *Cromatography A Science of discovery*. Jhon Wiley & sons Inc. Pulication. Canada.

- Ying, Z., Ying, F., Zhan-Feng, G., Xue-yun, D., Yan-Wen, L. 2009. Two New Terpenoid from *Valeriana officinalis*. *Chinese Jurnal of Natural Medicine* 7(4): 270-273
- Yermakov, A. I., Khalaifat, A. L., Qutob, H., Abramovic, R. A., Komyakov, Y. Y., 2010. Characteristic of the GC-MS Mass Spectra of Terpenoid. *J. Chemical Science. CSJ-7*
- Zheng, C., Huang, B., Wu, Y., Han, T., Zhang, Q. dan Qin, L. 2010. Terpenoids from *Viteks negundo* seeds. *J. Biochemical Systematic and Ecology* 38. 247-249



Lampiran 1. Skema kerja isolasi Senyawa dari isi biji tumbuhan bingkek (*Entada phaseoloides*. Merr)



Lampiran 2. Perbandingan spektroskopi UV, IR, ^{13}C -NMR, ^1H -NMR dan korelasi HMBC senyawa hasil isolasi terhadap senyawa standar (Phaseoloidin)

Senyawa Hasil isolasi		Senyawa standar (Phaseoloidin)	
Serapan maksimum (λ_{maks}) spektrum UV (nm)			
202		223	
287		288	
Bilangan gelombang ν_{maks} spektrum IR (cm^{-1})			
(OH) 3405, 3359		3464, 3372	
(C-H Aro) 2925		2960	
(COOH) 1684		1700	
(C-O gliko) 1082, 1044		1082, 1047	
Data pergeseran kimia spektrum ^{13}C -NMR (ppm)			
(C-1'') 103,37		103,06	
(C-2'') 73,32		73,52	
(C-3'') 76,77		76,96	
(C-4'') 70,07		69,96	
(C-5'') 76,61		76,64	
(C-6'') 61,39		61,01	
(C-1) 152,52		152,17	
(C-2) 126,33		126,04	
(C-3) 117,32		117,15	
(C-4) 149,37		148,61	
(C-5) 117,89		117,70	
(C-6) 114,20		114,15	
(C-7) 35,29		35,05	
(C-8) 173,05		172,92	
Data pergeseran kimia spektrum ^1H -NMR (ppm)			
(H-1'') 4,70 (1H)		4,58 (1H)	
(H-2'',3''4''6'') 3,28-3,37 (5H, m)		3,28-3,36 (5H, m)	
(H-1',CH ₂ Benzil 3,36-3,85 (3H, m)		3,36-3,85 (3H,m)	
(H-Gluko) 4,70 (1H,br)		4,70 (1H,br)	
(H-1) 16,63 (1H),		6,66 (1H)	
(H-3) 6,65 (1H,)		6,71 (1H)	
(H-4) 7,06 (1H,)		7,06 (1H)	
Data Korelasi HMBC			
(H-2)		-	
(H-3)		C-1, 2, 4, 5, 7	
(H-5)		C-1, 3, 4	
(H-6)		C-1, 2, 4	
(H-7)		C-1, 2, 3, 8	
(H-1')		C-1	
(H-2')		-	

Keterangan: Senyawa standar yang digunakan merujuk pada Barua *et,all* (1988) Dai, *et.all*.(1991) dan Sun Kim, *et.all*. (2004)